75ª EDICIÓN DE ANIVERSARIO

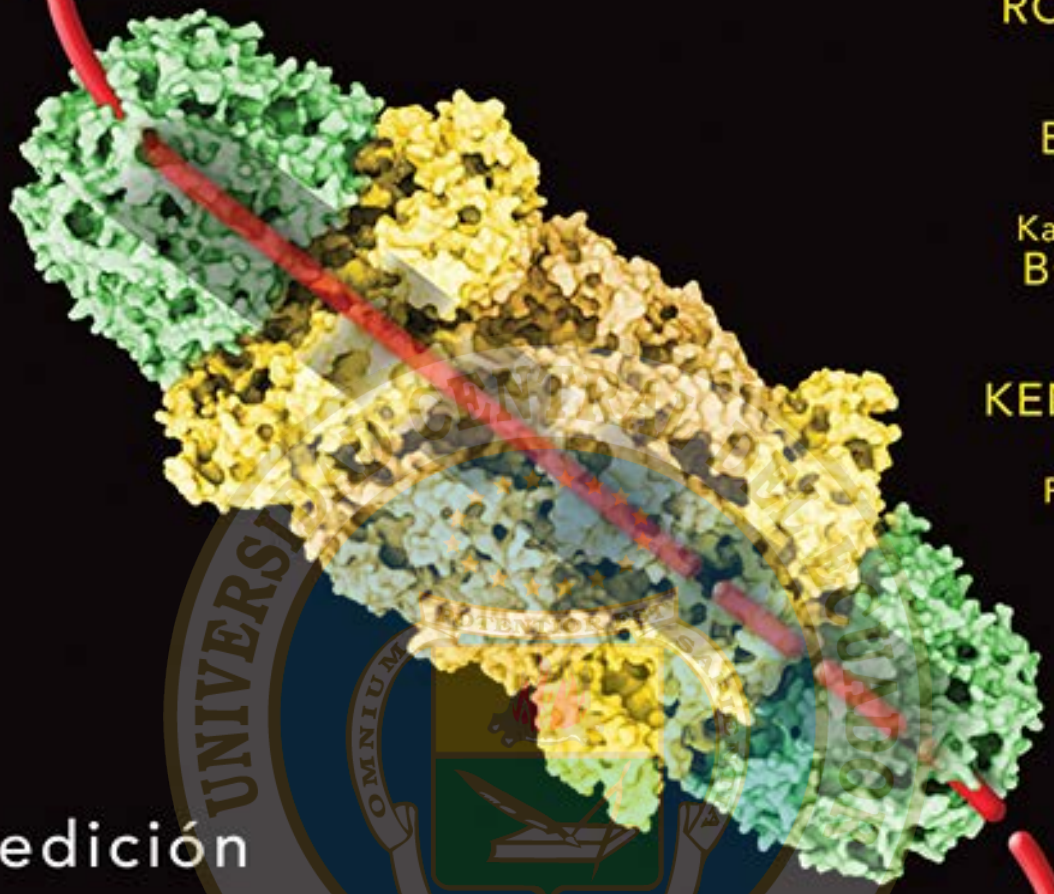
Victor W. RODWELL

David A. BENDER

Kathleen M. BOTHAM

Peter J. KENNELLY

P. Anthony WEIL



30ª edición

HARPER BIOQUÍMICA ILUSTRADA

Mc Graw Hill Education

LANGE®

Sistema Integrado de Bibliotecas
Biblioteca digital UCE
Calle Jerónimo Leyton y Gato Sobral – Cdla. Universitaria
+593 2230757 ext: 808 biblioteca.general@uce.edu.ec

BASE LEGAL PARA DIGITALIZACIÓN DE LIBROS CON DERECHOS DE AUTOR

El Sistema Integrado de Bibliotecas de la Universidad Central del Ecuador, digitalizará su acervo bibliográfico siempre y cuando sea para fines educativos y de investigación. No se permite la reproducción y distribución para la comercialización directa e indirecta del mismo.

La digitalización del material bibliográfico se lo realiza de acuerdo al Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación Art. 212 numeral 9, Literal ii "(…) Una biblioteca o archivo podrá, además, realizar los siguientes actos (…) La reproducción electrónica y comunicación pública de obras de su colección para ser consultadas gratuita y simultáneamente hasta por un número razonable de usuarios, sólo en terminales de redes de la respectiva institución o para usuarios de esa institución bajo su control, en condiciones que garanticen que no se puedan hacer copias electrónicas de esas reproducciones" y literal vii "La reproducción, adaptación, traducción, transformación, arreglo, distribución y comunicación de una obra protegida por derechos de autor o una prestación protegida por derechos conexos, en uno o más formatos accesibles para el uso exclusivo de personas con discapacidad".

Este material se considera un producto intelectual a favor de su autor; por tanto, la titularidad de sus derechos se encuentra protegida por el Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación. La violación a dichos derechos constituye un delito que será responsabilidad del usuario.

Este libro está disponible físicamente en:

BIBLIOTECA	Biblioteca Facultad de Odontología			**PISO**	
				ESTANTE	01
				BANDEJA	12
CONVENIO INTERINSTITUCIONAL		**UNIVERSIDAD**			

A LANGE medical book

Harper

Bioquímica ilustrada

30ª EDICIÓN

Victor W. Rodwell, PhD
Professor (Emeritus) of Biochemistry
Purdue University
West Lafayette, Indiana

David A. Bender, PhD
Professor (Emeritus) of Nutritional Biochemsitry
University College London
London, United Kingdom

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
Emeritus Professor of Biochemistry
Department of Comparative Biomedical Sciences
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom

Peter J. Kennelly, PhD
Professor and Head
Department of Biochemistry
Virginia Tech
Blacksburg, Virginia

P. Anthony Weil, PhD
Professor
Department of Molecular Physiology & Biophysics
Vanderbilt University
Nashville, Tennessee

Bernardo Rivera Muñoz
Traductor

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST OMNIUM SALIENTIA
FUNDADA EN QUITO

Mc Graw Hill Education

MÉXICO • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • MADRID • NUEVA YORK
SAN JUAN • SANTIAGO • SAO PAULO • AUCKLAND • LONDRES • MILÁN • MONTREAL
NUEVA DELHI • SAN FRANCISCO • SINGAPUR • ST. LOUIS • SIDNEY • TORONTO

Program & Portfolio Manager Professional: Javier de León Fraga
Development editor: Manuel Bernal Pérez
Supervisor de producción: Cristina Tapia Montes de Oca

NOTA
La medicina es una ciencia en constante desarrollo. Conforme surjan nuevos conocimientos, se requerirán cambios de la terapéutica. El(los) autor(es) y los editores se han esforzado para que los cuadros de dosificación medicamentosa sean precisos y acordes con lo establecido en la fecha de publicación. Sin embargo, ante los posibles errores humanos y cambios en la medicina, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación de la obra garantizan que la información contenida en ella sea precisa o completa, tampoco son responsables de errores u omisiones, ni de los resultados que con dicha información se obtengan. Convendría recurrir a otras fuentes de datos, por ejemplo, y de manera particular, habrá que consultar la hoja informativa que se adjunta con cada medicamento, para tener certeza de que la información de esta obra es precisa y no se han introducido cambios en la dosis recomendada o en las contraindicaciones para su administración. Esto es de particular importancia con respecto a fármacos nuevos o de uso no frecuente. También deberá consultarse a los laboratorios para recabar información sobre los valores normales.

Harper Bioquímica ilustrada

30ª EDICIÓN

Todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida, ni parcial, ni totalmente, ni registrada en / o transmitida por, un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni formato, por ningún medio, sea mecánico, fotocopiado, electrónico, magnético, electroóptico, o cualquier otro, sin el permiso previo y por escrito de la editorial.

DERECHOS RESERVADOS © 2016, 2013, 2010, respecto a la tercera edición en español por,
McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C. V.
Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A,
Piso 16, Col. Desarrollo Santa Fe,
Delegación Álvaro Obregón
C.P. 01376, México, D. F.
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. No. 736

ISBN: 978-607-15-1368-7
ISBN: 978-607-15-0914-7 (edición anterior)

Traslated from the thirtieth English edition of:
Harper's Illustrated Biochemistry.
Copyright © 2015 by McGraw-Hill Global Education Holdings, LLC
All Rights Reserved
ISBN 978-0-07-182534-4

CTP 04/16

1234567890 234578916

Impreso en China *Printed in China*

Coautores

Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C)
Associate Professor
Department of Medicine
McMaster University
Hamilton, Ontario, Canada

Molly Jacob, MBBS, MD, PhD
Professor and Chair
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Vellore, Tamil Nadu, India

Peter A. Mayes, PhD, DSc
Emeritus Professor of Veterinary Biochemistry
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom

Robert K. Murray, MD, PhD
Emeritus Professor of Biochemistry
University of Toronto
Toronto, Ontario

Margaret L. Rand, PhD
Senior Associate Scientist
The Hospital for Sick Children
Toronto, and Professor
Department of Laboratory Medicine & Pathobiology
University of Toronto, Toronto, Canada

Joe Varghese, MBBS, MD, DNB
Associate Professor
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Vellore, Tamil Nadu

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

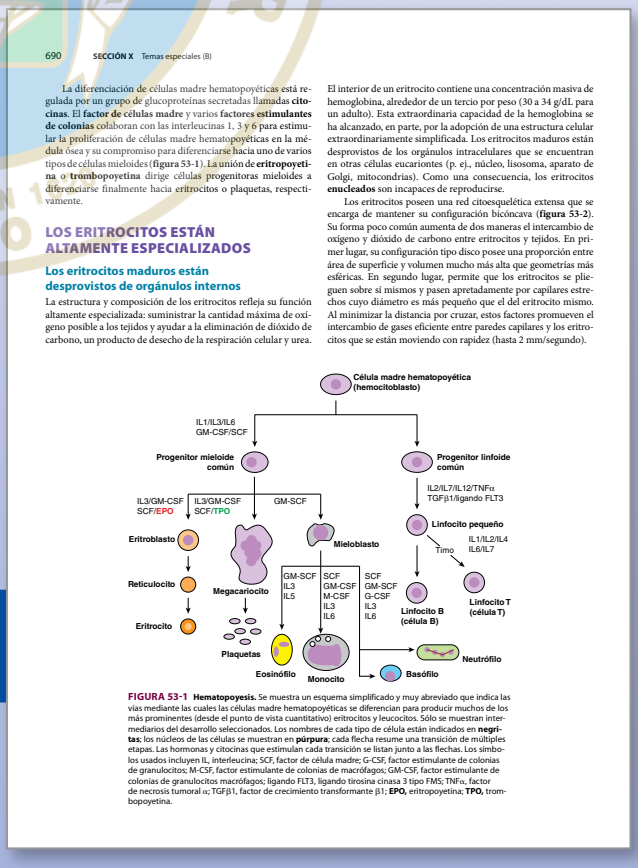
Características clave de la 30ª edición de *Harper. Bioquímica ilustrada*

La mejor referencia para comprender la relevancia clínica de los temas fundamentales de bioquímica

Características clave

- Presenta una revisión clara y sucinta de los fundamentos de bioquímica que todo estudiante debe entender para tener éxito en la escuela de medicina
- Los 58 capítulos hacen énfasis sobre la importancia médica de la bioquímica
- Combina magníficas ilustraciones a todo color con cobertura integrada de enfermedad bioquímica e información clínica
- La presentación a todo color incluye más de 600 ilustraciones
- Cada capítulo incluye una sección sobre Importancia biomédica y un resumen de los temas analizados
- Cada una de las 11 secciones va seguida por preguntas de revisión.
- Los estudios de caso en cada capítulo ponen de relieve la importancia clínica de la bioquímica
- NUEVA cobertura de diseño de fármacos auxiliado por computadora; el papel de la cascada del complemento en la infección bacteriana y viral; mediadores secretados de señalización célula-célula entre leucocitos; la función de los mastocitos, basófilos y eosinófilos, así como el peligro de los antioxidantes que regulan en dirección descendente la señalización de radical para apoptosis y aumentan el riesgo de cáncer
- Aplaudido por estudiantes de medicina por su estilo atractivo, texto actualizado y completo

El aprendizaje es reforzado por más de 600 ilustraciones a todo color



690 SECCIÓN X Temas especiales (8)

La diferenciación de células madre hematopoyéticas está regulada por un grupo de glucoproteínas secretadas llamadas **citocinas**. El **factor de células madre** y varios **factores estimulantes de colonias** colaboran con las interleucinas 1, 3 y 6 para estimular la proliferación de células madre hematopoyéticas en la médula ósea y su compromiso para diferenciarse hacia uno de varios tipos de células mieloides (**figura 53-1**). La unión de **eritropoyetina** o **trombopoyetina** dirige células progenitoras mieloides a diferenciarse finalmente hacia eritrocitos o plaquetas, respectivamente.

LOS ERITROCITOS ESTÁN ALTAMENTE ESPECIALIZADOS

Los eritrocitos maduros están desprovistos de orgánulos internos

La estructura y composición de los eritrocitos refleja su función altamente especializada: suministrar la cantidad máxima de oxígeno posible a los tejidos y ayudar a la eliminación de dióxido de carbono, un producto de desecho de la respiración celular y urea.

El interior de un eritrocito contiene una concentración masiva de hemoglobina, alrededor de un tercio por peso (30 a 34 g/dL para un adulto). Esta extraordinaria capacidad de la hemoglobina se ha alcanzado, en parte, por la adopción de una estructura celular extraordinariamente simplificada. Los eritrocitos maduros están desprovistos de los orgánulos intracelulares que se encuentran en otras células eucariontes (p. ej., núcleo, lisosoma, aparato de Golgi, mitocondrias). Como una consecuencia, los eritrocitos **enucleados** son incapaces de reproducirse.

Los eritrocitos poseen una red citoesquelética extensa que se encarga de mantener su configuración bicóncava (**figura 53-2**). Su forma poco común aumenta de dos maneras el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre eritrocitos y tejidos. En primer lugar, su configuración tipo disco posee una proporción entre área de superficie y volumen mucho más alta que geometrías más esféricas. En segundo lugar, permite que los eritrocitos se plieguen sobre sí mismos y pasen apretadamente por capilares estrechos cuyo diámetro es más pequeño que el del eritrocito mismo. Al minimizar la distancia por cruzar, estos factores promueven el intercambio de gases eficiente entre paredes capilares y los eritrocitos que se están moviendo con rapidez (hasta 2 mm/segundo).

FIGURA 53-1 Hematopoyesis. Se muestra un esquema simplificado y muy abreviado que indica las vías mediante las cuales las células madre hematopoyéticas se diferencian para producir muchos de los más prominentes (desde el punto de vista cuantitativo) eritrocitos y leucocitos. Sólo se muestran intermediarios del desarrollo seleccionados. Los nombres de cada tipo de célula están indicados en **negritas**; los núcleos de las células se muestran en **púrpura**; cada flecha resume una transición de múltiples etapas. Las hormonas y citocinas que estimulan cada transición se listan junto a las flechas. Los símbolos usados incluyen IL, interleucina; SCF, factor de célula madre; G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos; M-CSF, factor estimulante de colonias de macrófagos; GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos; ligando FLT3, ligando tirosina cinasa 3 tipo FMS; TNFα, factor de necrosis tumoral α; TGFβ1, factor de crecimiento transformante β1; **EPO,** eritropoyetina; **TPO,** trombopoyetina.

Preguntas de examen

Sección II Enzimas, cinética, mecanismo, regulación y bioinformática

1. La respiración rápida y superficial puede llevar a hiperventilación, un estado en el cual se exhala dióxido de carbono desde los pulmones con una rapidez que supera la producción de dicho compuesto por los tejidos. Explique cómo la hiperventilación puede llevar a un incremento del pH de la sangre.

2. Un ingeniero de proteína desea alterar el sitio activo de la quimotripsina de modo que divida enlaces peptídicos para el lado C terminal de residuos de aspartilo y glutamilo. El ingeniero de proteína tendrá más probabilidades de tener éxito si reemplaza el aminoácido hidrofóbico en la parte inferior de la bolsa del sitio activo con:
   A. Fenilalanina
   B. Treonina
   C. Glutamina
   D. Lisina
   E. Prolina

3. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Muchas proteínas mitocondriales son modificadas de manera covalente por la acetilación de los grupos ε-amino de residuos de lisina.
   B. La acetilación de proteína es un ejemplo de una modificación covalente que puede "revertirse" en condiciones fisiológicas.
   C. La concentración aumentada de acetil-coa tiende a favorecer la acetilación de proteína.
   D. La acetilación aumenta la masa estérica de las cadenas laterales de aminoácido que están sujetas a esta modificación.
   E. La cadena lateral de un residuo de lisilo acetilado es una base más fuerte que la de un residuo de lisilo no modificado.

4. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La catálisis acidobásica es una característica prominente del mecanismo catalítico de la proteasa de HIV.
   B. El modelo de cerradura y llave de Fischer explica el papel de la estabilización del estado de transición en la catálisis enzimática.
   C. La hidrólisis de enlaces peptídicos por serina proteasas comprende la formación transitoria de una enzima modificada.
   D. Muchas enzimas emplean iones metálicos como grupos prostéticos o cofactores.
   E. En general, las enzimas se unen a análogos de estado de transición más estrechamente que a análogos de sustrato.

5. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Para calcular la K_{eq}, la constante de equilibrio para una reacción, se divide la tasa inicial de reacción hacia adelante (tasa$_1$) por la velocidad inicial de la reacción reversa (tasa$_{-1}$).
   B. La presencia de una enzima no tiene efectos sobre la K_{eq}.
   C. Para una reacción conducida a temperatura constante, la fracción de las moléculas de reactante potenciales que poseen suficiente energía cinética para exceder la energía de activación de la reacción es una constante.
   D. Las enzimas y otros catalíticos disminuyen la energía de activación de reacciones.
   E. El signo algebraico de ΔG, el cambio de energía libre de Gibbs para una reacción, indica la dirección en la cual procederá una reacción.

6. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Como se usa en bioquímica, la concentración de estado estándar para productos y reactantes que no son protones es 1 molar.
   B. ΔG es una función del logaritmo de K_{eq}.
   C. Como se usa en cinética de reacción, el término "espontaneidad" se refiere al hecho de si la reacción como está escrita es favorecida para que proceda de izquierda a derecha.
   D. $\Delta G°$ denota un cambio de la energía libre que acompaña la transición desde el estado estándar hacia el equilibrio.
   E. En el momento en que se alcanza equilibrio, las tasas de la reacción hacia adelante y reversa disminuyen a cero.

7. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Las enzimas disminuyen la energía de activación para una reacción.
   B. Otro medio mediante el cual las enzimas disminuyen la energía de activación es el desestabilizar intermediarios de estado de transición.
   C. Los residuos histidilo de sitio activo a menudo ayudan a la catálisis al actuar como donadores de protones o como aceptores de los mismos.
   D. Algunas enzimas emplean catálisis covalente para proporcionar una vía de reacción única.
   E. La presencia de una enzima no tiene efectos sobre el $\Delta G°$.

8. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Para casi todas las enzimas, la relación de [S] y la tasa de reacción inicial, v_i, da una curva hiperbólica.
   B. Cuando [S] es mucho más bajo que K_m, el término K_m + [S] en la ecuación de Michaelis-Menten se aproxima mucho a K_m. En estas condiciones, la tasa de catálisis es una función lineal de [S].
   C. Las concentraciones molares de sustrato y productos son iguales cuando la tasa de una reacción catalizada por enzima alcanza la mitad de su máximo potencial ($V_{max}/2$).
   D. Se dice que una enzima ha quedado saturada con sustrato cuando el aumento sucesivo de [S] no produce un incremento importante de v_i.
   E. Cuando se hacen mediciones de tasa de estado estable, la concentración de sustratos debe exceder mucho la del catalítico enzimático.

9. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Ciertas enzimas monoméricas muestran cinética de tasa inicial sigmoidea.
   B. La ecuación de Hill se usa para realizar análisis cuantitativo de conducta cooperativa de enzimas o proteínas de transporte, como hemoglobina o calmodulina.
   C. Para una enzima que muestra unión cooperativa de sustrato, se dice que un valor de n (el coeficiente de Hill) de más de la unidad muestra cooperatividad positiva.
   D. Se dice que una enzima que cataliza una reacción entre dos o más sustratos opera mediante un mecanismo secuencial si los sustratos deben unirse en un orden fijo.

110

¡NUEVO! Cada sección va seguida por preguntas de revisión

SECCIÓN VI

Metabolismo de proteínas y aminoácidos

Biosíntesis de los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional

CAPÍTULO 27

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar por qué la falta de ciertos aminoácidos en la dieta que están presentes en casi todas las proteínas no es perjudicial para la salud del humano.
- Apreciar la distinción entre los términos aminoácidos "esenciales" y "nutricionalmente esenciales", e identificar los aminoácidos que son nutricionalmente no esenciales.
- Nombrar los intermediarios del ciclo del ácido cítrico y de la glucólisis que son precursores de aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, glicina y serina.
- Ilustrar el papel clave de las transaminasas en el metabolismo de los aminoácidos.
- Explicar el proceso por el cual se forman la 4-hidroxiprolina y la 5-hidroxilisina de proteínas como el colágeno.
- Describir la presentación clínica del escorbuto y proporcionar una explicación bioquímica de por qué una privación grave de vitamina C (ácido ascórbico) da por resultado este trastorno nutricional.
- Apreciar que, a pesar de la toxicidad del selenio, la selenocisteína es un componente esencial de varias proteínas de mamífero.
- Definir y esbozar la reacción catalizada por una oxidasa de función mixta.
- Identificar el papel de la tetrahidrobiopterina en la biosíntesis de tirosina.
- Indicar el papel de un tRNA modificado en la inserción cotraduccional de selenocisteína hacia proteínas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La deficiencia de los estados de aminoácidos que pueden producirse si faltan aminoácidos esenciales en la dieta, o si están presentes en cantidades inadecuadas. Algunos ejemplos de los estados de deficiencia de aminoácidos endémicos en ciertas regiones de África occidental incluyen **kwashiorkor**, que sobreviene cuando se destete y un niño y se le suministra una dieta farináceo con poca proteína, y el **marasmo**, en el cual tanto la ingestión calórica como aminoácidos específicos son deficientes. Los individuos con síndrome de intestino corto que carecen de la capacidad para absorber suficientes cantidades de calorías y nutrientes sufren anormalidades nutricionales y metabólicas importantes. Tanto el trastorno nutricional **escorbuto**, una deficiencia de vitamina C en la dieta, como trastornos genéticos específicos, se relacionan con alteración de la capacidad del tejido conjuntivo para formar hidroxiprolina e hidroxilisina. La inestabilidad conformacional resultante del colágeno origina sangrado de encías, hinchazón de articulaciones, cicatrización inadecuada de heridas y por último la muerte. El **síndrome de Menkes**, que se caracteriza por pelo rizado y retraso del crecimiento, depende de una deficiencia de cobre en la dieta, que es un cofactor esencial para la lisil oxidasa, una enzima que funciona en la formación de los enlaces covalentes que fortalecen las fibras de colágeno. Los trastornos genéticos de la biosíntesis del colágeno comprenden varias formas de **osteogénesis imperfecta**, caracterizada por huesos frágiles, y **síndrome de Ehlers-Danlos**, un grupo de trastornos del tejido conjuntivo que suscitan hipermovilidad articular y anormalidades cutáneas debidas a defectos de los genes que codifican para enzimas que incluyen la lisil hidroxilasa.

281

OBJETIVOS al inicio de cada capítulo definen la meta de aprendizaje

550 **SECCIÓN IX** Temas especiales (A)

CUADRO 44-4 Ingesta de nutrientes recomendada para vitaminas, FAO 2001

Edad	Vit A (μg)	Vit D (μg)	Vit K (μg)	Vit B_1 (mg)	Vit B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit B_6 (mg)	Folato (μg)	Vit B_{12} (μg)	Vit C (mg)	Ácido pantoténico (mg)	Biotina (μg)
0 a 6 meses	375	5	5	0.2	0.3	2	0.1	80	0.4	25	1.7	5
7 a 12 meses	400	5	10	0.3	0.4	4	0.3	80	0.5	30	1.8	6
1 a 3 años	400	5	15	0.5	0.5	6	0.5	160	0.9	30	2.0	8
4 a 6 años	450	5	20	0.6	0.6	8	0.6	200	1.2	30	3.0	12
7 a 9 años	500	5	25	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	35	4.0	20
Varones												
10 a 18 años	600	5	35-55	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	40	5.0	30
19 a 50 años	600	5	65	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	45	5.0	30
50 a 65 años	600	10	65	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	45	5.0	30
> 65 años	600	15	65	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	45	5.0	30
Mujeres												
10 a 18 años	600	5	35-55	1.1	1.0	16	1.2	400	2.4	40	5.0	25
19 a 50 años	600	5	55	1.1	1.1	14	1.3	400	2.4	45	5.0	30
50 a 65 años	600	10	55	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	45	5.0	30
> 65 años	600	15	55	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	45	5.0	30
Embarazadas	800	5	55	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	55	6.0	30
En lactación	850	5	55	1.5	1.6	17	2.0	500	2.8	70	7.0	35

Fuente: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, *Human Vitamin and Mineral Requirements*, FAO, 2001.

CUADRO 44-5 Las vitaminas

Vitaminas		Funciones	Enfermedad por deficiencia
Liposolubles			
A	Retinol, β-caroteno	Pigmentos visuales en la retina; regulación de la expresión de gen y de la diferenciación celular (el β-caroteno es un antioxidante)	Ceguera nocturna, xeroftalmia; queratinización de la piel
D	Calciferol	Mantenimiento del equilibrio del calcio; aumenta la absorción intestinal de Ca^{++} y moviliza el mineral óseo; regulación de la expresión de gen y de la diferenciación celular	Raquitismo ← mineralización inadecuada de huesos; osteomalacia ← desmineralización ósea
E	Tocoferoles, tocotrienoles	Antioxidante, especialmente en membranas celulares; papeles en la emisión de señales celulares	En extremo rara (disfunción neurológica grave)
K	Filoquinona; menaquinonas	Coenzima en la formación de γ-carboxiglutamato en enzimas de la coagulación de la sangre y de la matriz ósea	Alteración de la coagulación de la sangre, enfermedad hemorrágica
Hidrosolubles			
B_1	Tiamina	Coenzima en las piruvato y α-cetoglutarato dehidrogenasas y la transcetolasa; regula el canal de Cl^- en la conducción nerviosa	Daño de nervios periféricos (beriberi) o lesiones en el sistema nervioso central (síndrome de Wernicke-Korsakoff)
B_2	Riboflavina	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción (FAD y FMN); grupo protésico de flavoproteínas	Lesiones de los ángulos de la boca, los labios y la lengua, dermatitis seborreica
Niacina	Ácido nicotínico, nicotinamida	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción, parte funcional del NAD y el NADP; papel en la regulación de calcio intracelular y la emisión de señales celulares	Pelagra (dermatitis fotosensible, psicosis depresiva)
B_6	Piridoxina, piridoxal, piridoxamina	Coenzima en la transaminación y la descarboxilación de aminoácidos y glucógeno fosforilasa; modulación de la acción de hormona esteroide	Trastornos del metabolismo de aminoácidos, convulsiones
	Ácido fólico	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono	Anemia megaloblástica
B_{12}	Cobalamina	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono y el metabolismo del ácido fólico	Anemia perniciosa ← anemia megaloblástica con degeneración de la médula espinal
	Ácido pantoténico	Parte funcional de la CoA y de la proteína transportadora de acilo; síntesis de ácidos grasos y metabolismo de los mismos	Daño de nervio periférico (mealgia nutricional o "síndrome del pie ardiente")
H	Biotina	Coenzima en reacciones de carboxilación en la gluconeogénesis y la síntesis de ácidos grasos; papel en la regulación del ciclo celular	Alteración del metabolismo de grasas y carbohidratos, dermatitis
C	Ácido ascórbico	Coenzima en la hidroxilación de prolina y lisina en la síntesis de colágeno; antioxidante; aumenta la absorción de hierro	Escorbuto (alteración de la cicatrización de heridas, pérdida del cemento dental, hemorragia subcutánea)

Los cuadros presentan información clave

SECCIÓN III

Bioenergética

Bioenergética: la función del ATP

CAPÍTULO 11

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Enunciar la primera y segunda leyes de la termodinámica, y entender cómo se aplican a sistemas biológicos.
- Explicar qué significan los términos energía libre, entropía, entalpía, exergónico y endergónico.
- Apreciar cómo las reacciones que son endergónicas pueden ser impulsadas por acoplamiento a las que son exergónicas en sistemas biológicos.
- Entender la función de fosfatos de alta energía, ATP y otros nucleótido trifosfatos en la transferencia de energía libre desde procesos exergónicos hacia endergónicos, lo que les permite actuar como la "moneda de energía" de las células.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioenergética, o termodinámica bioquímica, es el estudio de los cambios de energía que acompañan a reacciones bioquímicas. Los sistemas biológicos son, en esencia, **isotérmicos**, y usan energía química para impulsar procesos vivos. El modo en que un animal obtiene combustible idóneo a partir de sus alimentos para proporcionar esta energía es básico para el entendimiento de la nutrición y el metabolismo normales. La muerte por **inanición** ocurre cuando se agotan las reservas de energía disponibles, y ciertas formas de malnutrición se relacionan con desequilibrio de energía (**marasmo**). Las hormonas tiroideas controlan el **índice metabólico** (índice de liberación de energía) y sobreviene enfermedad cuando funcionan mal. El almacenamiento excesivo de energía excedente causa **obesidad**, misma que es cada vez más común en la sociedad occidental, padecimiento que predispone a muchas enfermedades, como enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2, además de que disminuye la esperanza de vida del individuo.

LA ENERGÍA LIBRE ES LA ENERGÍA ÚTIL EN UN SISTEMA

El cambio de **energía libre** de Gibbs (ΔG) es la porción del cambio de energía total en un sistema que está disponible para desempeñar trabajo, es decir, la energía útil, también conocida como el potencial químico.

Los sistemas biológicos se conforman a las leyes generales de la termodinámica

La primera ley de la termodinámica establece que **la energía total de un sistema, incluso sus alrededores, permanece constante**. Eso implica que dentro del sistema total, la energía no se pierde ni se gana durante cambio alguno; sin embargo, sí se puede transferir de una porción del sistema a otra, o transformarse en otra forma de energía. En sistemas vivos, la energía química se transforma hacia calor o hacia energías eléctrica, radiante o mecánica.

113

Todos los capítulos incluyen una sección sobre la importancia biomédica del tema bajo escrutinio

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM SCIENTIA SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

Contenido

Prefacio xi

SECCIÓN I **Estructuras y funciones de proteínas y enzimas 1**

1 Bioquímica y medicina 1
Victor W. Rodwell, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

2 Agua y pH 6
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

3 Aminoácidos y péptidos 15
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

4 Proteínas: determinación de la estructura primaria 25
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

5 Proteínas: órdenes de estructura superiores 36
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

SECCIÓN II **Enzimas: cinética, mecanismo, regulación y bioinformática 51**

6 Proteínas: mioglobina y hemoglobina 51
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

7 Enzimas: mecanismo de acción 60
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

8 Enzimas: cinética 73
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

9 Enzimas: regulación de actividades 87
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

10 Bioinformática y biología computacional 97
Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

SECCIÓN III **Bioenergética 113**

11 Bioenergética: la función del ATP 113
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

12 Oxidación biológica 119
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

13 La cadena respiratoria y fosforilación oxidativa 126
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

SECCIÓN IV **Metabolismo de carbohidratos 139**

14 Perspectiva general del metabolismo y el suministro de combustibles metabólicos 139
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

15 Carbohidratos importantes desde el punto de vista fisiológico 152
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

16 El ciclo del ácido cítrico: la vía central del metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos 161
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

17 Glucólisis y la oxidación de piruvato 168
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR POTENTIOR EST SAPIENTIA OMNIUM FUNDADA EN 1620 QUITO

18 Metabolismo del glucógeno 176
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

19 Gluconeogénesis y control de la glucosa en sangre 185
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

20 La vía de la pentosa fosfato y otras vías del metabolismo de hexosas 196
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

SECCIÓN V **Metabolismo de lípidos 211**

21 Lípidos importantes desde el punto de vista fisiológico 211
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

22 Oxidación de ácidos grasos: cetogénesis 223
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

23 Biosíntesis de ácidos grasos y eicosanoides 232
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

24 Metabolismo de acilgliceroles y esfingolípidos 245
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

25 Transporte y almacenamiento de lípidos 253
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

26 Síntesis, transporte y excreción de colesterol 266
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

SECCIÓN VI **Metabolismo de proteínas y aminoácidos 281**

27 Biosíntesis de los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional 281
Victor W. Rodwell, PhD

28 Catabolismo de proteínas y de nitrógeno de aminoácidos 287
Victor W. Rodwell, PhD

29 Catabolismo de los esqueletos de carbono de aminoácidos 297
Victor W. Rodwell, PhD

30 Conversión de aminoácidos en productos especializados 313
Victor W. Rodwell, PhD

31 Porfirinas y pigmentos biliares 323
Victor W. Rodwell, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

SECCIÓN VII **Estructura, función y replicación de macromoléculas informacionales 339**

32 Nucleótidos 339
Victor W. Rodwell, PhD

33 Metabolismo de nucleótidos purina y pirimidina 347
Victor W. Rodwell, PhD

34 Estructura y función del ácido nucleico 359
P. Anthony Weil, PhD

35 Organización, replicación y reparación del DNA 370
P. Anthony Weil, PhD

36 Síntesis, procesamiento y modificación del RNA 394
P. Anthony Weil, PhD

37 Síntesis de proteína y el código genético 413
P. Anthony Weil, PhD

38 Regulación de la expresión de gen 428
P. Anthony Weil, PhD

39 Genética molecular, DNA recombinante y tecnología genómica 451
P. Anthony Weil, PhD

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POTENTIAE EST SCIENTIA
FUNDADA EN 1826 QUITO

SECCIÓN VIII **Bioquímica de la comunicación extracelular e intracelular 477**

40 Membranas: estructura y función 477
Robert K. Murray, MD, PhD & P. Anthony Weil, PhD

41 La diversidad del sistema endocrino 498
P. Anthony Weil, PhD

42 Acción hormonal y transducción de señal 518
P. Anthony Weil, PhD

SECCIÓN IX **Temas especiales (A) 537**

43 Nutrición, digestión y absorción 537
David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

44 Micronutrientes: vitaminas y minerales 546
David A. Bender, PhD

45 Radicales libres y nutrientes antioxidantes 564
David A. Bender, PhD

46 Glucoproteínas 569
David A. Bender, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

47 Metabolismo de los xenobióticos 583
David A. Bender, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

48 Bioquímica clínica 589
David A. Bender, PhD, Joe Varghese, MBBS, MD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD, & Robert K. Murray, MD, PhD

SECCIÓN X **Temas especiales (B) 607**

49 Tráfico y distribución intracelulares de proteínas 607
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Robert K. Murray, MD, PhD

50 La matriz extracelular 627
Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Robert K. Murray, MD, PhD

51 Músculo y citoesqueleto 647
Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

52 Proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas 668
Peter J. Kennelly, PhD, Robert K. Murray, MD, PhD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD & Joe Varghese, MBBS, MD

53 Eritrocitos 689
Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

54 Leucocitos 700
Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

SECCIÓN XI **Temas especiales (C) 711**

55 Hemostasia y trombosis 711
Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C), Robert K. Murray, MD, PhD, P. Anthony Weil, PhD, & Margaret L. Rand, PhD

56 Cáncer: una perspectiva general 722
Molly Jacob, MBBS, MD, PhD, Joe Varghese, MBBS, MD, Robert K. Murray, MD, PhD & P. Anthony Weil, PhD

57 Historias de caso bioquímicas 746
David A. Bender, PhD

58 Bioquímica del envejecimiento 755
Peter J. Kennelly, PhD

Banco de respuestas 771
Índice 777
Siglario 801

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POTENTIORI EST SCIENTIA
FUNDADA EN 1826
QUITO

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

Prefacio

Los autores y los editores se complacen en presentar la 30ª edición de *Harper. Bioquímica ilustrada*. La primera edición, titulada *Bioquímica de Harper*, se publicó en 1939 bajo la autoría única del Dr. Harold Harper en la University of California School of Medicine, San Francisco, California. Actualmente titulado *Harper. Bioquímica ilustrada*, el libro, como originalmente era la intención, brinda un panorama conciso de los aspectos de bioquímica más relevantes para el estudio de la medicina. Diversos autores han contribuido en ediciones subsiguientes de este libro de bioquímica con orientación médica, que ahora está cumpliendo sus 75 años.

Ilustración de la portada para la 30ª edición

La ilustración de la portada representa el proteasoma y la degradación proteolítica inicial de una proteína intracelular ubiquitinada. El proteasoma consta de un complejo macromolecular de 14 subunidades α y 14 subunidades β (mostradas en verde y amarillo, respectivamente) dispuestas como cuatro anillos apilados $\alpha_7\beta_7\beta_7\alpha_7$; éstos forman una cámara hueca, parecida a tubo, que contiene proteasas inmovilizadas. Un polipéptido marcado para degradación (que se muestra en rojo) entra al proteasoma (parte superior izquierda) y es hidrolizado hacia fragmentos peptídicos por proteasas internas del proteasoma. Después de su salida del proteasoma (parte inferior derecha) proteasas extracelulares degradan estos fragmentos peptídicos a aminoácidos.

La degradación oportuna y controlada de proteínas intracelulares es crucial para procesos biológicos tan fundamentales como la diferenciación y la división celulares. La capacidad para reconocer proteínas desnaturalizadas o dañadas y desecharlas es esencial para la salud, porque la acumulación de agregados proteínicos contribuye de manera significativa a propiciar diversas enfermedades del ser humano, incluso muchos trastornos neurológicos. Aaron Ciechanover y Avram Hershko de Israel, así como Irwin Rose de Estados Unidos, recibieron el Premio Nobel de Química 2004 por el descubrimiento de la degradación de proteína mediada por ubiquitina.

Cambios en la 30ª edición

La 30ª edición de *Harper. Bioquímica ilustrada*, continúa su actualización oportuna e integrada del conocimiento bioquímico, haciendo hincapié repetido en su relación con enfermedades genéticas, información clínica y el ejercicio de la medicina. Esta edición incluye nuevas ilustraciones y cuadros a todo color, y muchos ejemplos médicamente importantes que presentan una revisión clara y sucinta de los aspectos fundamentales de la bioquímica que un estudiante necesita entender para tener éxito en la escuela de medicina. Además de actualización oportuna del contenido, se hizo una importante revisión del orden de presentación de los conceptos. Los 58 capítulos presentes están organizados bajo una lista expandida de 11 secciones. Los capítulos y los temas en estas secciones recalcan cobertura integrada de enfermedad biomédica e información clínica. Un cambio importante ha sido que después del retiro del Dr. Murray, la autoría y la revisión de sus 13 capítulos han sido asumidas por los doctores Bender, Botham, Kennelly y Rodwell. Por ejemplo, la sección X contiene un nuevo capítulo sobre leucocitos, y la sección XI presenta nueve problemas de caso clínico abiertos, por completo nuevos, que recalcan la importancia clínica y prueban tanto el conocimiento como el entendimiento. Para facilitar el dominio de cada grupo de conceptos por un estudiante, ahora aparecen preguntas después de cada una de las 11 nuevas secciones. Se han añadido muchas preguntas nuevas y el último capítulo va seguido por un banco de respuestas. Otro aspecto nuevo de esta edición es la inclusión de explicaciones integrales de muchas respuestas de dicho banco.

Organización del libro

Los 58 capítulos de la 30ª edición hacen énfasis en la importancia médica de la bioquímica. Los temas están organizados bajo 11 encabezados principales; a fin de facilitar la retención de la información contenida, cada sección va seguida por preguntas y después del apéndice se presenta un banco de respuestas.

La **sección I** incluye una breve historia de la bioquímica y subraya las interrelaciones entre bioquímica y medicina. Se revisan el agua y el pH, y se abordan los diversos órdenes de estructura de proteínas.

La **sección II** empieza con un capítulo sobre hemoglobina; tres capítulos abordan la cinética, el mecanismo de acción y la regulación metabólica de enzimas. Un capítulo sobre bioinformática y biología computacional refleja la importancia siempre creciente de estos temas en la bioquímica, biología y medicina modernas.

En la **sección III** se abordan la bioenergética y el papel de los fosfatos de alta energía en la captación de energía y la transferencia de la misma, las reacciones de oxidación-reducción involucradas en la oxidación biológica, así como detalles metabólicos de la captación de energía por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.

La **sección IV** considera el metabolismo de los carbohidratos por medio de glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, la vía de la pentosa fosfato, el metabolismo del glucógeno, la gluconeogénesis y el control de la glucosa en la sangre.

En la **sección V** se esboza la naturaleza de lípidos simples y complejos, el transporte y almacenamiento de lípidos, la biosíntesis y degradación de ácidos grasos y lípidos más complejos, y las reacciones y regulación metabólica de

la biosíntesis del colesterol y el transporte del mismo en humanos.

La **sección VI** aborda el catabolismo de proteína, la biosíntesis de urea, y el catabolismo de aminoácidos, y hace énfasis en los trastornos metabólicos de importancia médica asociados con su catabolismo incompleto. En el último capítulo se considera la bioquímica de las porfirinas y los pigmentos biliares.

En la **sección VII** se esbozan primero la estructura y la función de nucleótidos y ácidos nucleicos, a continuación se detallan la replicación y la reparación del DNA, la síntesis y modificación del RNA, la síntesis de proteína, los principios de la tecnología de DNA recombinante y la regulación de la expresión de gen.

En la **sección VIII** se consideran aspectos de la comunicación extracelular e intracelular. Los temas específicos incluyen estructura y función de membrana, las bases moleculares de las acciones de hormonas y la transducción de señal.

En las **secciones IX, X** y **XI** se abordan 14 temas de importancia médica.

La **sección IX** trata sobre la nutrición, digestión y absorción; incluye micronutrientes, vitaminas, radicales libres y antioxidantes, glucoproteínas, el metabolismo de xenobióticos y bioquímica clínica.

En la **sección X** se abordan el tráfico y la distribución intracelulares de proteínas, la matriz extracelular, músculo y el citoesqueleto, proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas, así como la bioquímica de eritrocitos y de leucocitos.

En la **sección XI** se incluyen la hemostasia y trombosis, una perspectiva general del cáncer y la bioquímica del envejecimiento.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Michael Weitz por su papel en la planeación de esta edición y a Regina Y. Brown por su participación en la preparación de la misma para publicación. También agradecemos a Shruti Awasthi de Cenveo Publisher Services por sus esfuerzos en la edición, composición tipográfica e ilustraciones. Las sugerencias de estudiantes y colegas de todo el mundo han sido de lo más útiles en la formulación de esta edición. Esperamos recibir aportes similares en el futuro. Por último, agradecemos a Robert Murray por su liderazgo y contribuciones a ediciones previas de este libro.

Victor W. Rodwell
David A. Bender
Kathleen M. Botham
Peter J. Kennelly
P. Anthony Weil

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POTENTIOR EST SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN I

Estructuras y funciones de proteínas y enzimas

CAPÍTULO 1

Bioquímica y medicina

Victor W. Rodwell, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender la importancia de la capacidad de extractos de levadura libres de células para fermentar azúcares, una observación que permitió el descubrimiento de los productos intermediarios de la fermentación, la glucólisis y otras vías metabólicas.
- Apreciar el alcance de la bioquímica y su papel fundamental en las ciencias de la vida, y que la bioquímica y la medicina son disciplinas íntimamente afines.
- Apreciar que la bioquímica integra el conocimiento de los procesos químicos en células vivas con estrategias para mantener la salud, entender la enfermedad, identificar terapias potenciales, y mejorar el entendimiento de los orígenes de la vida sobre la Tierra.
- Describir cómo los métodos genéticos han sido cruciales para dilucidar muchas áreas de la bioquímica, y cómo el Human Genome Project ha promovido avances en muchos aspectos de la biología y la medicina.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioquímica y la medicina disfrutan de una relación de cooperación mutua. Los estudios bioquímicos han aclarado muchos aspectos de la salud y la enfermedad, además de que el estudio de diversos aspectos de la salud y la enfermedad ha abierto nuevas áreas de la bioquímica. En todo este libro se recalca la importancia médica de la bioquímica en situaciones tanto normales como anormales. La bioquímica hace contribuciones importantes a los campos de la biología celular, la fisiología, la inmunología, microbiología, farmacología y toxicología, así como a los campos de la inflamación, la lesión celular y el cáncer. Estas relaciones estrechas hacen hincapié en que la vida, tal como se conoce, depende de reacciones y procesos bioquímicos.

LA BIOQUÍMICA EMPEZÓ CON EL DESCUBRIMIENTO DE QUE UN EXTRACTO DE LEVADURA LIBRE DE CÉLULAS PUEDE FERMENTAR AZÚCAR

El conocimiento de que la levadura puede convertir los azúcares en alcohol etílico antecede a la historia registrada; sin embargo, no fue sino hasta los primeros años del siglo xx que este proceso condujo directamente a la ciencia de la bioquímica. A pesar de sus perspicaces investigaciones de la elaboración de la cerveza y el vino, el gran microbiólogo francés Louis Pasteur sostenía que el proceso de fermentación sólo podía ocurrir en células intactas. Su error fue demostrado en 1899 por los hermanos Büchner, quienes descubrieron que la fermentación de hecho puede ocurrir en extractos libres de células. Esta revelación fue el resultado del almacenamiento en un extracto de levadura en una vasija de solución de azúcar concentrada añadido como un conservante. Durante la noche, el contenido de la vasija se fermentó, se derramó sobre el banco y el piso del laboratorio, y demostró de manera impresionante que la fermentación puede proceder en ausencia de una célula intacta. Este descubrimiento hizo posible una serie rápida y muy productiva de investigaciones durante los primeros años del siglo xx, que iniciaron la ciencia de la bioquímica. Tales investigaciones revelaron el papel vital del fosfato inorgánico, el ADP, el ATP y el NAD(H), y finalmente identificar los azúcares fosforilados y las reacciones químicas y enzimas (del griego "en levadura") que convierten la glucosa en piruvato (glucólisis) o en etanol y CO_2 (fermentación). Investigaciones subsiguientes durante las décadas de 1930-1969 y 1940-1949 identificaron los intermediarios del ciclo del ácido cítrico y de la biosíntesis de

la urea, y proporcionaron información acerca de las funciones esenciales de ciertos cofactores derivados de vitaminas o "coenzimas", como el pirofosfato de tiamina, la riboflavina y, finalmente, las coenzimas: coenzima A, coenzima Q, y cobamida. Durante el decenio de 1950-1959 se reveló cómo se sintetizan carbohidratos complejos a partir de azúcares simples y se descomponen hacia estos últimos, también se delinearon las vías para la biosíntesis de pentosas y la descomposición de aminoácidos y lípidos.

Modelos en animales, órganos intactos perfundidos, cortes de tejido, homogeneizados de células y sus subfracciones, y enzimas purificadas, se usaron para aislar metabolitos y enzimas, así como para identificarlos. Estos avances se hicieron posibles por la creación a finales de la década de 1930-1939 y principios de la de 1940-1949, de técnicas como la ultracentrifugación analítica, la cromatografía en papel y otras formas de cromatografía, y la disponibilidad de radioisótopos después de la Segunda Guerra Mundial, principalmente ^{14}C, ^{3}H y ^{32}P, como "trazadores" para identificar los intermediarios en vías complejas, como la que lleva a la biosíntesis de colesterol y otros isoprenoides, y las vías de la biosíntesis de aminoácidos y el catabolismo de los mismos. A continuación se usó cristalografía de rayos X para determinar la estructura tridimensional, primero de la mioglobina, y después de muchas proteínas, polinucleótidos, enzimas y virus, incluso los del resfriado común. Los avances genéticos que siguieron a la comprensión de que el DNA era una doble hélice incluyen la reacción en cadena de polimerasa, y animales transgénicos o aquellos con deleciones de gen. En los capítulos siguientes se comentan los métodos usados para preparar, analizar, purificar e identificar metabolitos, así como las actividades de enzimas naturales y recombinantes, y sus estructuras tridimensionales.

LA BIOQUÍMICA Y LA MEDICINA HAN ESTIMULADO AVANCES MUTUOS

Las dos preocupaciones principales para los trabajadores en las ciencias de la salud —particularmente para los médicos— son el entendimiento y el mantenimiento de la salud, así como la comprensión de la enfermedad y el tratamiento eficaz de la misma. La bioquímica repercute sobre estas dos preocupaciones fundamentales, de hecho, la interrelación entre la bioquímica y la medicina es una calle ancha, de doble sentido. Los estudios bioquímicos han aclarado muchos aspectos de la salud y la enfermedad y, por el contrario, el estudio de diversos aspectos de la salud y la enfermedad ha abierto nuevas áreas de la bioquímica (**figura 1-1**). El conocimiento de la estructura y la función de las proteínas fue necesario para identificar y entender la diferencia única en la secuencia de aminoácidos entre la hemoglobina normal y la hemoglobina de células falciformes, y el análisis de muchas hemoglobinas de células falciformes y otras variantes, ha contribuido de manera significativa al entendimiento de la estructura y la función tanto de la hemoglobina normal como de otras proteínas. Durante principios de la década de 1900-1909 el médico inglés Archibald Garrod estudió a pacientes que tenían los trastornos relativamente raros de alcaptonuria, albinismo, cistinuria y pentosuria, además de que estableció que dichas enfermedades estaban determinadas genéticamente. Garrod designó a estas enfermedades **errores congénitos del metabolismo**; sus ideas constituyeron los cimientos para el desarrollo del campo de la genética bioquímica humana. Un ejemplo más reciente fue la investigación de las bases genética y molecular de la hipercolesterolemia familiar, una enfermedad que da por resultado aterosclerosis de inicio temprano. Además de aclarar diferentes mutaciones genéticas de las cuales depende esta enfermedad, esto proporcionó un entendimiento más profundo de los receptores celulares y los mecanismos de captación, no sólo del colesterol, sino de cómo otras moléculas cruzan membranas celulares. Los estudios de **oncogenes** y de **genes supresores tumorales** en células cancerosas han dirigido la atención a los mecanismos moleculares involucrados en el control del crecimiento celular normal; tales ejemplos ilustran cómo el estudio de la enfermedad puede abrir áreas de investigación bioquímica básica. La ciencia proporciona a los médicos y a otros trabajadores en el cuidado de la salud y la biología un fundamento que repercute sobre la práctica, estimula la curiosidad y promueve la adopción de métodos científicos para el aprendizaje continuo. En tanto el tratamiento médico esté firmemente basado en el conocimiento de la bioquímica y otras ciencias básicas, el ejercicio de la medicina tendrá una base racional capaz de dar cabida a nuevo conocimiento, y adaptarse al mismo.

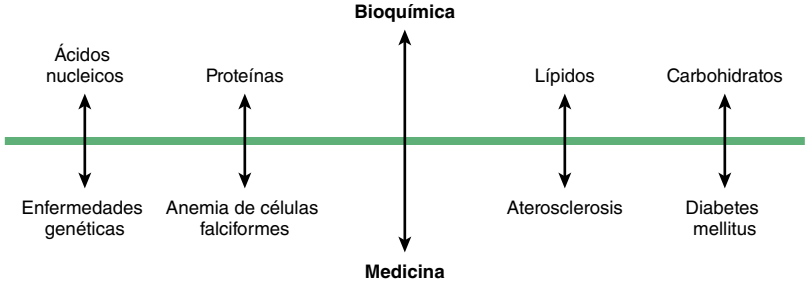


FIGURA 1-1 Una calle de doble sentido conecta la bioquímica y la medicina. El conocimiento de los temas bioquímicos listados por arriba de la línea verde del diagrama ha aclarado el entendimiento de las enfermedades mostradas por debajo de dicha línea. A su vez, los análisis de las enfermedades han aclarado muchas áreas de la bioquímica. Note que la anemia de células falciformes es una enfermedad genética y que tanto la aterosclerosis como la diabetes mellitus tienen componentes genéticos.

LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS NORMALES SON LA BASE DE LA SALUD

La investigación bioquímica repercute sobre la nutrición y la medicina preventiva

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la salud como un estado de "bienestar físico, mental y social completo, y no sólo la ausencia de enfermedad". Desde un punto de vista bioquímico, la salud puede considerarse aquella situación en la cual todos los muchos miles de reacciones intracelulares y extracelulares que se producen en el organismo están procediendo a tasas acordes con la supervivencia del organismo bajo la presión de desafíos tanto internos como externos. El mantenimiento de la salud requiere la ingestión óptima de diversas sustancias químicas en la dieta, entre las cuales las principales son **vitaminas**, ciertos **aminoácidos** y **ácidos grasos**, diversos **minerales** y **agua**. El entendimiento de la nutrición depende en gran medida del conocimiento de la bioquímica, las ciencias de la bioquímica y la nutrición comparten un enfoque en estas sustancias químicas. El hincapié creciente observado a últimas fechas en intentos sistemáticos por mantener la salud y prevenir enfermedad, o medicina preventiva, incluye enfoques nutricionales para la prevención de enfermedades, como aterosclerosis y cáncer.

La mayoría de las enfermedades tienen una base bioquímica

Además de microorganismos infecciosos y contaminantes ambientales, muchas enfermedades son manifestaciones de anormalidades en genes, proteínas, reacciones químicas, o procesos bioquímicos, cada uno de los cuales puede tener efectos adversos sobre una o más funciones bioquímicas cruciales. Los ejemplos de las alteraciones de la bioquímica del ser humano de las cuales dependen enfermedades u otros estados debilitantes son desequilibrio de electrólitos, ingestión o absorción defectuosa de nutrientes, desequilibrios hormonales, sustancias químicas o agentes biológicos tóxicos, así como trastornos genéticos basados en el DNA. Para hacer frente a estos retos, la investigación bioquímica sigue estando entrelazada con estudios en disciplinas como genética, biología celular, inmunología, nutrición, patología y farmacología. Además, muchos bioquímicos están vitalmente interesados en contribuir a soluciones para problemas clave, como la supervivencia final del género humano, y la educación del público para apoyar el uso del método científico en la resolución de problemas ambientales y otros problemas importantes a los cuales se enfrenta el humano.

Repercusiones del Human Genome Project sobre la bioquímica, biología y medicina

El progreso rápido inicialmente inesperado a finales de la década de 1990-1999 en la secuenciación del genoma humano llevó a mediados de la década del 2000-2009 al anuncio de que se había secuenciado más de 90% del genoma. Este esfuerzo fue encabezado por el International Human Genome Sequencing Consortium y por Celera Genomics, una compañía privada. A excepción de algunas lagunas, la secuencia del genoma humano entero se completó en 2003, justo 50 años después de la descripción de la naturaleza de doble hélice del DNA por Watson y Crick. Las implicaciones para la bioquímica, la medicina y, de hecho, para toda la biología, son prácticamente ilimitadas. Por ejemplo, la capacidad para aislar y secuenciar un gen y para investigar su estructura y función mediante experimentos de secuenciación y de "deleción (*knockout*) de gen" han revelado genes previamente desconocidos y sus productos, y se han adquirido nuevos conocimientos respecto a la evolución del ser humano y los procedimientos para identificar genes relacionados con enfermedad.

Los avances importantes en bioquímica, y el entendimiento de la salud y enfermedad del ser humano siguen efectuándose mediante mutación de los genomas de organismos modelo, como levadura y eucariontes, como la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y el gusano redondo *Caenorhabditis elegans*. Cada organismo tiene un tiempo de generación corto y puede manipularse genéticamente para obtener información acerca de las funciones de genes individuales. Tales avances en potencia pueden traducirse en métodos que ayudan a los seres humanos al proporcionar pistas para curar enfermedades del ser humano, como el cáncer y la enfermedad de Alzheimer. La **figura 1-2** pone de relieve áreas que se han desarrollado o acelerado como consecuencia directa del progreso hecho en el Human Genome Project (HGP). Han florecido nuevos campos de "-ómica", cada uno de los cuales se centra en el estudio exhaustivo de las estructuras y funciones de las moléculas a las cuales se dedica cada una. Las definiciones de estos campos de -ómica que se mencionan a continuación aparecen en el glosario de este capítulo. Los productos de genes (moléculas de RNA y proteínas) se están estudiando con el uso de las técnicas de **transcriptómica** y **proteómica**. Un ejemplo espectacular de la rapidez del progreso en la transcriptómica es la explosión del conocimiento acerca de moléculas de RNA pequeñas como reguladores de la actividad de genes. Otros campos de la -ómica incluyen **glicómica**, **lipidómica**, **metabolómica**, **nutrigenómica** y **farmacogenómica**; para mantener el ritmo de la generación de información, la bioinformática ha recibido mucha atención. Otros campos relacionados a los cuales el ímpetu del HGP se ha transmitido son la **biotecnología**, la **bioingeniería**, la **biofísica** y la **bioética**. La **nanotecnología** es un área activa que, por ejemplo, puede proporcionar nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento para cáncer y otros trastornos. La **biología de células madre** se encuentra en el centro de gran parte de la investigación actual. La **terapia génica** todavía tiene que cumplir la promesa que parece ofrecer, pero parece probable que finalmente lo hará. Muchas **pruebas de diagnóstico molecular** nuevas se han desarrollado en áreas como práctica de pruebas y diagnóstico, genéticos, microbiológicos e inmunológicos. La **biología de sistemas** también está creciendo. Los resultados de la investigación en las diversas áreas ya mencionadas tendrán tremendas repercusiones sobre el futuro de la biología, la medicina y las ciencias de la salud. La **biología sintética** ofrece el potencial de crear organismos vivos, inicialmente bacterias pequeñas, a partir de material genético *in vitro*, que podrían llevar a cabo tareas específicas, como limpiar derrames de petróleo. Todo lo anterior hace del siglo XXI un tiempo emocionante para estar directamente involucrado en la biología y la medicina.

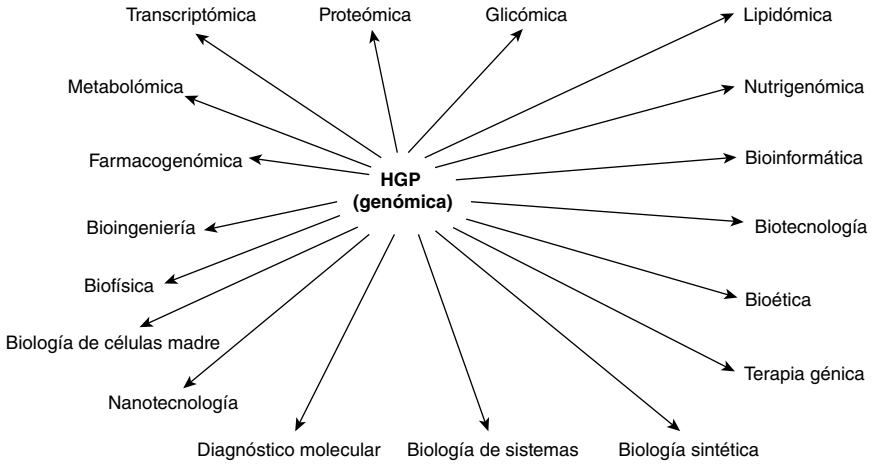


FIGURA 1-2 El Human Genome Project (HGP) ha influido sobre muchas disciplinas y áreas de investigación. La bioquímica no está listada porque antecede al comienzo del HGP, sin embargo, disciplinas como la bioinformática, la genómica, la glicómica, lipidómica, metabolómica, diagnóstico molecular, proteómica y transcriptómica, son áreas activas de investigación bioquímica.

RESUMEN

- La bioquímica es la ciencia que se ocupa del estudio de las diversas moléculas que ocurren en las células y organismos vivos, las reacciones químicas individuales y sus catalizadores enzimáticos, y la expresión y regulación de cada proceso metabólico. Dado que la vida depende de reacciones bioquímicas, la bioquímica se ha convertido en el lenguaje básico de todas las ciencias biológicas.
- A pesar del enfoque en la bioquímica humana en este libro, la bioquímica se refiere a toda la gama de formas de vida, desde virus, bacterias y plantas relativamente simples, hasta eucariontes complejos, como los humanos.
- La bioquímica, la medicina y otras disciplinas del cuidado de la salud están íntimamente relacionadas. La salud en todas las especies depende de un equilibrio armónico de las reacciones bioquímicas que ocurren en el organismo, mientras que la enfermedad refleja anormalidades en biomoléculas, reacciones bioquímicas o procesos bioquímicos.
- Los avances en el conocimiento bioquímico han aclarado muchas áreas de la medicina y el estudio de las enfermedades a menudo ha revelado aspectos previamente insospechados de la bioquímica.
- Los métodos bioquímicos a menudo son fundamentales para aclarar las causas de enfermedades y para diseñar terapias apropiadas, y diversas pruebas de laboratorio bioquímicas representan un componente integral del diagnóstico, y de la vigilancia del tratamiento.
- Un conocimiento sólido de la bioquímica y otras disciplinas básicas relacionadas es esencial para el ejercicio racional de la medicina y de ciencias de la salud relacionadas.
- Los resultados del HGP y de la investigación en áreas relacionadas tendrán una profunda influencia sobre el futuro de la biología, la medicina y otras ciencias de la salud.
- La investigación genómica en organismos modelo como levaduras, la mosca de la fruta *D. melanogaster* y el gusano redondo *C. elegans* proporciona información para entender las enfermedades humanas.

REFERENCIAS

Alberts B: Model organisms and human health. Science 2010;330:1724.

Alberts B: Lessons from genomics. Science 2011;331:511.

Cammack R, Attwood T, Campbell P, *et al* (editors): *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology*. 2nd ed. Oxford University Press, 2006.

Cooke M: Science for physicians. Science 2010;329:1573.

Feero WG, Guttmacher AE, Collins FS: Genomic medicine—an updated primer. N Engl J Med 2010;362:2001.

Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, *et al*: Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science 2010;329:52.

Kornberg A: Centenary of the birth of modern biochemistry. FASEB J 1997;11:1209.

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): Center for Medical Genetics, Johns Hopkins University & National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/.

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001. Available online and updated as *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease* at www.ommbid.com.

Weatherall DJ: Systems biology and red cells. N Engl J Med 2011;364:376.

GLOSARIO

Bioética. El área de la ética que se ocupa de la aplicación de los principios morales y éticos a la biología y la medicina.

Biofísica. La aplicación de la física y sus técnicas a la biología y la medicina.

Bioinformática. La disciplina que se ocupa de la recopilación, el almacenamiento y el análisis de datos biológicos, principalmente secuencias de DNA y de proteína (capítulo 10).

Bioingeniería. La aplicación de ingeniería a la biología y la medicina.

Biología de células madre. Las células madre son células indiferenciadas que tienen el potencial de autorrenovarse y de diferenciarse hacia cualquiera de las células adultas de un organismo. La biología de células madre estudia los aspectos

biológicos de las células madre y su potencial para tratar diversas enfermedades.

Biología de sistemas. El campo estudia sistemas biológicos complejos como entidades integradas.

Biología sintética. El campo que combina técnicas biomoleculares con métodos de ingeniería para construir nuevas funciones biológicas, y nuevos sistemas biológicos.

Biotecnología. El campo en el cual se combinan métodos bioquímicos, de ingeniería y otros para desarrollar productos biológicos de uso en medicina y en la industria.

Diagnóstico molecular. Se refiere al uso de métodos moleculares —como sondas de DNA— para ayudar en el diagnóstico de diversas enfermedades bioquímicas, genéticas, inmunológicas, microbiológicas y otras enfermedades médicas.

Farmacogenómica. El uso de información y tecnologías genómicas para optimizar el descubrimiento y el desarrollo de nuevos fármacos y de blancos de fármacos.

Genómica. El genoma es el conjunto completo de genes de un organismo, y la genómica es el estudio a fondo de las estructuras y las funciones de los genomas.

Glicómica. El glicoma es la totalidad de carbohidratos simples y complejos en un organismo. La glicómica es el estudio sistemático de las estructuras y funciones de glicomas, como el glicoma humano.

Lipidómica. El lipidoma es la totalidad de lípidos que se encuentran en un organismo. La lipidómica es el estudio a fondo de las estructuras y funciones de todos los miembros del lipidoma y de sus interacciones, tanto en salud como en enfermedad.

Metabolómica. El metaboloma es la totalidad de los metabolitos (moléculas pequeñas involucradas en el metabolismo) presentes en un organismo. La metabolómica es el estudio a fondo de sus estructuras, funciones y cambios en diversos estados metabólicos.

Nanotecnología. El desarrollo y la aplicación a la medicina y a otras áreas, de dispositivos como nanocápsulas que sólo miden algunos nanómetros (10^{-9} m = 1 nm).

Nutrigenómica. El estudio sistemático de los efectos de los nutrientes sobre la expresión genética y de los efectos de las variaciones genéticas sobre el metabolismo de nutrientes.

Proteómica. El proteoma es la totalidad de proteínas de un organismo. La proteómica es el estudio sistemático de las estructuras y funciones de los proteomas, así como sus variaciones en salud y enfermedad.

Terapia génica. Se aplica al uso de genes sometidos a procedimientos de ingeniería genética para tratar diversas enfermedades.

Transcriptómica. El estudio integral del transcriptoma, el conjunto completo de transcritos de RNA producidos por el genoma durante un período fijo.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 2

Agua y pH

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las propiedades del agua que explican su tensión de superficie, viscosidad, estado líquido a temperatura ambiente y poder solvente.
- Usar fórmulas estructurales para representar varios compuestos orgánicos que pueden servir como donadores de enlace de hidrógeno o como aceptores del mismo.
- Explicar la función que desempeña la entropía en la orientación, en un ambiente acuoso, de las regiones polar y no polar de macromoléculas.
- Indicar las contribuciones cuantitativas de los puentes de sal, las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de Van der Waals a la estabilidad de las macromoléculas.
- Explicar la relación del pH con la acidez, alcalinidad y los determinantes cuantitativos que caracterizan los ácidos débiles y fuertes.
- Calcular el cambio de pH que acompaña a la adición de una cantidad dada de ácido o base a una solución amortiguada.
- Describir qué hacen los amortiguadores, cómo lo hacen, y las condiciones en las cuales un amortiguador es más eficaz en condiciones fisiológicas o en otras condiciones.
- Ilustrar cómo la ecuación de Henderson-Hasselbalch puede usarse para calcular el cambio neto de un polielectrólito a un pH dado.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El agua es el componente químico predominante de los organismos vivos. Sus singulares propiedades físicas, que incluyen la capacidad para solvatar una amplia gama de moléculas orgánicas e inorgánicas, se derivan de su estructura bipolar y de su excepcional capacidad para formar enlaces de hidrógeno. La manera en que el agua interactúa con una biomolécula solvatada influye sobre la estructura de ambas, tanto de la biomolécula como del agua. El agua, un excelente nucleófilo, es un reactivo o un producto en muchas reacciones metabólicas. La regulación del equilibrio del agua depende de mecanismos hipotalámicos que controlan la sed, de la hormona antidiurética (ADH), de la retención o excreción de agua por los riñones, y de la pérdida por evaporación. La diabetes insípida nefrogénica, que comprende la incapacidad para concentrar orina o para hacer ajustes a cambios sutiles de la osmolaridad del líquido extracelular, se produce por falta de capacidad de respuesta de los osmorreceptores de los túbulos renales a la ADH.

El agua tiene una propensión leve a disociarse hacia iones hidróxido y protones. La concentración de protones, o **acidez**, de soluciones acuosas por lo general se reporta usando la escala de pH logarítmica. El bicarbonato y otros amortiguadores en circunstancias normales mantienen el pH del líquido extracelular entre 7.35 y 7.45. Las alteraciones sospechadas del equilibrio acidobásico se verifican al medir el pH de la sangre arterial y el contenido de CO_2 de la sangre venosa. Las causas de acidosis (pH sanguíneo < 7.35) son cetosis diabética y acidosis láctica. La alcalosis (pH > 7.45) puede presentarse después de vómitos de contenido gástrico ácido.

EL AGUA ES UN SOLVENTE BIOLÓGICO IDEAL

Las moléculas de agua forman dipolos

Una molécula de agua es un tetraedro irregular, un tanto asimétrico, con oxígeno en su centro (**figura 2-1**). Los dos hidrógenos y los electrones no compartidos de los dos orbitales sp^3-hibridados restantes ocupan los ángulos del tetraedro. El ángulo de 105 grados entre los hidrógenos difiere un poco del ángulo tetraédrico ideal, de 109.5 grados. El amoniaco también es tetraédrico, con un ángulo de 107 grados entre sus tres hidrógenos. El átomo de oxígeno fuertemente electronegativo en el agua empuja los electrones en dirección contraria a los núcleos de hidrógeno, lo que los deja con una carga positiva parcial, mientras que sus dos

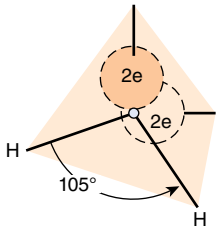


FIGURA 2-1 La molécula de agua tiene geometría tetraédrica.

pares de electrones no compartidos constituyen una región de carga negativa local.

Una molécula con carga eléctrica distribuida de manera asimétrica alrededor de su estructura se denomina un **dipolo**. La **constante dieléctrica** alta del agua depende de su dipolo fuerte. Como se describe de manera cuantitativa mediante la ley de Coulomb, la fuerza de la interacción F entre partículas que tienen carga opuesta es inversamente proporcional a la constante dieléctrica ε del medio circundante. La constante dieléctrica para un vacío es la unidad; para el hexano es 1.9; para el etanol, 24.3, y para el agua, 78.5. Por ende, el agua disminuye mucho la fuerza de atracción entre especies cargadas y polares en comparación con ambientes libres de agua que tienen constantes dieléctricas más bajas. Su fuerte dipolo y constante dieléctrica alta permiten al agua disolver grandes cantidades de compuestos cargados, como las sales.

Las moléculas de agua forman enlaces de hidrógeno

Un núcleo de hidrógeno parcialmente desprotegido, unido de manera covalente a un átomo de oxígeno o de nitrógeno que extrae electrón, puede interactuar con un par de electrones no compartidos sobre otro átomo de oxígeno o nitrógeno para formar un **enlace de hidrógeno**. Dado que las moléculas de agua tienen estas dos características, la formación de enlaces de hidrógeno favorece la autoasociación de moléculas de agua hacia disposiciones ordenadas (**figura 2-2**). La formación de enlaces de hidrógeno ejerce una profunda influencia sobre las propiedades físicas del agua, lo que explica su viscosidad, tensión superficial y punto de ebullición relativamente altos. En promedio, cada molécula en agua líquida se asocia por medio de enlaces de hidrógeno con otras 3.5. Estos enlaces son hasta cierto punto débiles y transitorios, con una vida media de unos pocos nanosegundos o menos. La rotura de un enlace de hidrógeno en agua líquida sólo requiere alrededor de 4.5 kcal/mol, menos de 5% de la energía necesaria para romper un enlace O—H covalente.

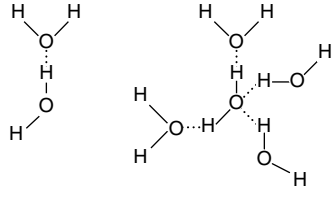


FIGURA 2-2 Las moléculas de agua se asocian entre sí por medio de enlaces de hidrógeno. Se muestran la asociación de dos moléculas de agua (izquierda) y una agrupación de cuatro moléculas de agua con enlaces de hidrógeno (derecha). Note que el agua puede servir a la vez como donante de hidrógeno y como aceptor de hidrógeno.

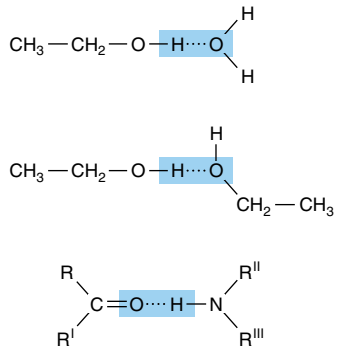


FIGURA 2-3 Los grupos polares adicionales participan en la formación de enlaces de hidrógeno. Se muestran los enlaces de hidrógeno formados entre alcohol y agua, entre dos moléculas de etanol, y entre el péptido carbonilo oxígeno y el péptido nitrógeno hidrógeno de un aminoácido adyacente.

La formación de enlaces de hidrógeno permite al agua disolver muchas biomoléculas orgánicas que contienen grupos funcionales que pueden participar en la formación de enlaces de hidrógeno. Los átomos de oxígeno de aldehídos, cetonas y amidas, por ejemplo, proporcionan pares solitarios de electrones que tienen la capacidad de servir como aceptores de hidrógeno. Los alcoholes, los ácidos carboxílicos y las aminas pueden servir como aceptores de hidrógeno y como donadores de átomos de hidrógeno desprotegidos para formación de enlaces de hidrógeno (**figura 2-3**).

INTERACCIÓN CON AGUA INFLUYE SOBRE LA ESTRUCTURA DE BIOMOLÉCULAS

Los enlaces covalentes y no covalentes estabilizan moléculas biológicas

El enlace covalente es la mayor fuerza que mantiene juntas a las moléculas (**cuadro 2-1**). Las fuerzas no covalentes, aunque son de menor magnitud, hacen contribuciones importantes a la estructura, estabilidad y competencia funcional de macromoléculas en

CUADRO 2-1 Energías de enlace para átomos de importancia biológica

Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)	Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)
O—O	34	O═O	96
S—S	51	C—H	99
C—N	70	C═S	108
S—H	81	O—H	110
C—C	82	C═C	147
C—O	84	C═N	147
N—H	94	C═O	164

las células vivas. Estas fuerzas, que pueden ser de atracción o de repulsión, comprenden interacciones tanto dentro de la biomolécula como entre la misma y el agua, que es el principal componente del ambiente circundante.

Las biomoléculas se pliegan para colocar a grupos polares y cargados sobre sus superficies

Casi todas las biomoléculas son **anfipáticas**; esto es, poseen regiones con alto contenido de grupos funcionales cargados o polares, así como regiones con carácter hidrofóbico. Las proteínas tienden a plegarse con los grupos R de aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas en el interior. Los aminoácidos con cadenas laterales de aminoácidos cargadas o polares (p. ej., arginina, glutamato, serina; vea cuadro 3-1) por lo general están presentes sobre la superficie en contacto con agua. Un modelo similar prevalece en una bicapa de fosfolípidos, donde los "grupos con cabeza" cargada de fosfatidil serina o fosfatidil etanolamina tienen contacto con agua, mientras que sus cadenas laterales de ácido (acilo) graso hidrofóbicas se agrupan juntas y excluyen el agua (vea figura 40-5). Este modelo maximiza las oportunidades para la formación de interacciones de carga-dipolo, dipolo-dipolo, y formación de enlaces de hidrógeno, favorables desde el punto de vista energético entre grupos polares sobre la biomolécula y el agua. También minimiza contactos desfavorables desde el punto de vista energético entre el agua y grupos hidrofóbicos.

Interacciones hidrofóbicas

El término "interacción hidrofóbica" (o hidrófoba) alude a la tendencia de compuestos no polares a autoasociarse en un ambiente acuoso. Tal autoasociación no está impulsada por atracción mutua ni por lo que a veces es denominado de manera incorrecta como "enlaces hidrofóbicos". La autoasociación minimiza la disrupción de interacciones desfavorables desde el punto de vista energético entre las moléculas de agua circundantes.

Dado que los hidrógenos de grupos no polares —como los grupos metileno de hidrocarburos— no forman enlaces de hidrógeno, afectan la estructura del agua que los rodea. Las moléculas de agua adyacentes a un grupo hidrofóbico tienen restricción en cuanto al número de orientaciones (grados de libertad) que les permiten participar en el número máximo de enlaces de hidrógeno favorables desde el punto de vista energético. La formación máxima de múltiples enlaces de hidrógeno, que maximiza la entalpía, sólo puede mantenerse al aumentar el orden de las moléculas de agua adyacentes, con un decremento acompañante de la entropía.

La segunda ley de la termodinámica establece que la energía libre óptima de una mezcla de hidrocarburo-agua está en función tanto de la entalpía máxima (por formación de enlaces de hidrógeno) como de la entropía mínima (grados máximos de libertad). De este modo, las moléculas no polares tienden a formar gotitas a fin de minimizar el área de superficie expuesta y reducir el número de moléculas de agua cuya libertad de movimiento se restringe. De modo similar, en el ambiente acuoso de la célula viva las porciones hidrofóbicas de biopolímeros tienden a estar sepultadas dentro de la estructura de la molécula o dentro de una bicapa lípida, lo que minimiza el contacto con agua.

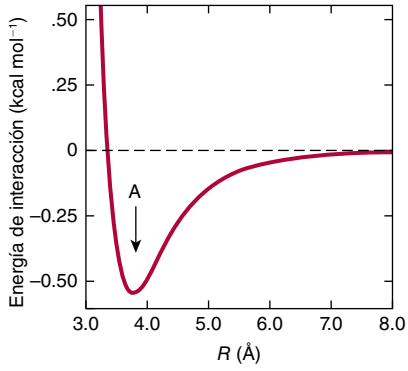


FIGURA 2-4 La fuerza de las interacciones de Van der Waals varía con la distancia, *R*, entre especies que interactúan. La fuerza de interacción entre especies que interactúan aumenta con la distancia decreciente hasta que son separadas por la distancia de contacto de Van der Waals (véase la flecha marcada con A). A continuación sobreviene repulsión debida a la interacción entre los electrones de cada átomo o molécula. Si bien las interacciones de Van der Waals son en extremo débiles, el efecto acumulativo es considerable para macromoléculas como DNA y proteínas con muchos átomos en contacto estrecho.

Interacciones electrostáticas

Las interacciones entre grupos cargados ayudan a dar forma a la estructura biomolecular. Las interacciones electrostáticas entre grupos que tienen carga opuesta dentro de biomoléculas o entre las mismas se denominan **puentes de sal**, los cuales tienen fuerza comparable a la de los enlaces de hidrógeno, pero actúan en distancias mayores; por ende, a menudo facilitan el enlace de moléculas y iones cargados a proteínas y ácidos nucleicos.

Fuerzas de Van der Waals

Surgen por atracciones entre dipolos transitorios generados por el movimiento rápido de electrones de todos los átomos neutros. Las fuerzas de Van der Waals —mucho más débiles que los enlaces de hidrógeno, pero abundantes— disminuyen en términos de la sexta potencia de la distancia que separa a los átomos (**figura 2-4**). De este modo, actúan en distancias muy cortas, por lo general de 2 a 4 Å.

Fuerzas múltiples estabilizan biomoléculas

La doble hélice de DNA ilustra la contribución de múltiples fuerzas a la estructura de biomoléculas. Si bien cada cadena de DNA individual se mantiene junta por medio de enlaces covalentes, las dos hebras de la hélice se mantienen unidas de manera exclusiva mediante interacciones no covalentes. Estas últimas comprenden enlaces de hidrógeno entre bases de nucleótido (formación de pares de bases de Watson-Crick) e interacciones de Van der Waals entre las bases de purina y pirimidina apiladas. La doble hélice presenta los grupos fosfato cargados y grupos hidroxilo polares de los azúcares ribosa del esqueleto del DNA a agua mientras que sepulta dentro las bases nucleótido relativamente hidrofóbicas. El esqueleto extendido maximiza la distancia entre fosfatos que tienen carga negativa, lo que minimiza interacciones electrostáticas desfavorables (vea figura 34-2).

EL AGUA ES UN EXCELENTE NUCLEÓFILO

Las reacciones metabólicas a menudo comprenden el ataque por pares solitarios de electrones que residen sobre moléculas ricas en electrones llamadas **nucleófilos** sobre átomos con pocos electrones llamados **electrófilos**. Los nucleófilos y electrófilos no necesariamente poseen una carga negativa o positiva formal. El agua, cuyos dos pares solitarios de electrones sp^3 tienen una carga negativa parcial (figura 2-1), es un excelente nucleófilo. Otros nucleófilos de importancia biológica son los átomos de oxígeno de fosfatos, alcoholes y ácidos carboxílicos; el azufre de tioles; el nitrógeno de aminas y el anillo imidazol de la histidina. Los electrófilos comunes son los carbonos carbonilo en amidas, ésteres, aldehídos y cetonas, y los átomos de fósforo de fosfoésteres.

El ataque nucleofílico por agua en forma típica origina la división de los enlaces amida, glucósido o éster que mantienen juntos a los biopolímeros. Este proceso recibe el nombre de **hidrólisis**. A la inversa, cuando unidades de monómeros se unen para formar biopolímeros como proteínas o glucógeno, el agua es un producto, por ejemplo, durante la formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos:

Si bien la hidrólisis es una reacción favorecida desde el punto de vista termodinámico, los enlaces amida y fosfoéster de polipéptidos y oligonucleótidos son estables en el ambiente acuoso de la célula. Esta conducta al parecer paradójica refleja el hecho de que la termodinámica que rige el equilibrio de una reacción no determina el *índice* al cual procederá hacia su punto de equilibrio. En las células, catalíticos proteína llamados **enzimas** aceleran el índice de reacciones hidrolíticas cuando es necesario. Las **proteasas** catalizan la hidrólisis de proteínas hacia los aminoácidos que las componen, mientras que las **nucleasas** catalizan la hidrólisis de los enlaces fosfoéster en el DNA y el RNA. Se requiere control cuidadoso de las actividades de estas enzimas para asegurar que sólo actúen sobre moléculas blanco apropiadas en momentos apropiados.

Muchas reacciones metabólicas comprenden transferencia de grupo

Muchas de las reacciones enzimáticas de las cuales depende la síntesis y desintegración de biomoléculas comprenden la transferencia de un grupo químico G desde un donador D hacia un aceptor A para formar un complejo de grupo aceptor, A—G:

$$\text{D—G} + \text{A} \rightleftarrows \text{A—G} + \text{D}$$

Por ejemplo, la hidrólisis y la fosforólisis de glucógeno comprenden la transferencia de grupos glucosilo a agua o a ortofosfato. La constante de equilibrio para la hidrólisis de enlaces covalentes favorece fuertemente la formación de productos de división. Por el contrario, en muchos casos las reacciones de transferencia de grupo de las cuales depende la biosíntesis de macromoléculas comprenden la formación no favorecida termodinámicamente de enlaces covalentes. Los catalíticos de enzimas desempeñan una función crucial en la superación de estas barreras en virtud de su capacidad para enlazar directamente entre sí dos reacciones que en circunstancias normales están separadas. Mediante vincular una reacción de transferencia de grupo energéticamente desfavorable con una reacción termodinámicamente favorable, como la hidrólisis de ATP, puede generarse una nueva reacción acoplada cuya carga *general* neta en energía libre favorece la síntesis de biopolímero.

Dado el carácter hidrofílico del agua y su concentración alta en las células, ¿por qué los biopolímeros como las proteínas y el DNA son relativamente estables? Y ¿cómo puede ocurrir síntesis de biopolímeros en un ambiente acuoso que favorece la hidrólisis? Para contestar ambas preguntas son fundamentales las propiedades de las enzimas. En ausencia de catálisis enzimática, incluso las reacciones que son muy favorecidas desde el punto de vista termodinámico no necesariamente tienen lugar con rapidez. El control preciso y diferencial de la actividad enzimática, y el secuestro de enzimas en orgánulos específicos, determinan las circunstancias fisiológicas bajo las cuales un biopolímero dado se sintetizará o se degradará. La capacidad de los sitios activos de enzima para secuestrar sustratos en un ambiente del cual se puede excluir agua facilita la síntesis de biopolímero.

Las moléculas de agua muestran una tendencia leve pero importante a disociarse

La capacidad del agua para ionizarse, si bien es leve, tiene importancia fundamental para la vida. Dado que el agua tiene la capacidad de actuar como un ácido y como una base, su ionización puede representarse como una transferencia de protón intermolecular que forma un ion hidronio (H_3O^+) y un ion hidróxido (OH^-):

$$H_2O + H_2O \rightleftarrows H_3O + OH^-$$

El protón transferido en realidad se relaciona con una agrupación de moléculas de agua. Los protones existen en solución no sólo como H_3O^+, sino también como multímeros tipo $H_5O_2^+$ y $H_7O_3^+$; sin embargo, el protón se representa de manera sistemática como H^+, aun cuando de hecho está muy hidratado.

Dado que los iones hidronio e hidróxido se recombinan de manera continua para formar moléculas de agua, es imposible declarar que un hidrógeno u oxígeno *individual* está presente como un ion o formando parte de una molécula de agua. En un instante es un ion, pero al siguiente forma parte de una molécula de agua; de modo que no se consideran iones o moléculas individuales. En lugar de eso, se hace referencia a la *probabilidad* de que en cualquier instante en el tiempo un hidrógeno estará presente como ion o como parte de una molécula de agua. Dado que 1 g de agua contiene 3.46×10^{22} moléculas, la ionización del agua puede describirse de manera estadística. Declarar que la probabilidad de que un hidrógeno exista como un ion es de 0.01 significa que, en cualquier momento dado en el tiempo, un átomo de hidrógeno tiene 1 probabilidad en 100 de ser un ion pero 99 probabilidades en 100 de formar parte de una molécula de agua. La probabilidad real de que un átomo de hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de alrededor de 1.8×10^{-9}. De este modo, la probabilidad de que forme parte de una molécula de agua es de casi la unidad. Dicho de otra manera, por cada ion hidrógeno y cada ion hidróxido en agua pura, hay 1.8 mil millones o 1.8×10^9 moléculas de agua. Sin embargo, los iones hidrógeno y los iones hidróxido contribuyen de manera importante a las propiedades del agua.

Para la disociación del agua,

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

donde los corchetes representan concentraciones molares (estrictamente hablando, actividades molares) y K es la **constante de disociación**. Puesto que un mol de agua pesa 18 g, 1 litro (L) (1 000 g) de agua contiene 1 000 ÷ 18 = 55.56 mol. Así, el agua pura es 55.56 molar. Dado que la probabilidad de que un hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de 1.8×10^{-9}, la concentración molar de iones H^+ (o de iones OH^-) en agua pura es el producto de la probabilidad, 1.8×10^{-9}, veces la concentración molar de agua, 55.56 mol/L. El resultado es 1.0×10^{-7} mol/L.

Ahora es posible calcular la constante de disociación K para el agua pura:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = \frac{[10^{-7}][10^{-7}]}{[55.56]}$$
$$= 0.018 \times 10^{-14} = 1.8 \times 10^{-16}\,\text{mol/L}$$

La concentración molar del agua, 55.56 mol/L, es demasiado grande como para que la disociación la afecte de manera significativa, de modo que se considera que, en esencia, es constante. Así, esta constante puede incorporarse en la constante de disociación K para proporcionar una nueva y útil constante K_w (W, de *water*, "agua") llamada el **producto ion** para el agua. La relación entre K_w y K se muestra a continuación:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = 1.8 \times 10^{-16}\,\text{mol/L}$$
$$K_w = (K)[H_2O] = [H^+][OH^-]$$
$$= (1.8 \times 10^{-16}\,\text{mol/L})(55.56\,\text{mol/L})$$
$$= 1.00 \times 10^{-14}\,(\text{mol/L})^2$$

Note que las dimensiones de K son mol por litro y las de K_w son mol^2 por L^2. Como su nombre lo sugiere, el producto ion K_w es igual desde el punto de vista numérico al producto de las concentraciones molares de H^+ y OH^-:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

A 25 °C, $K_w = (10^{-7})^2$, o $10^{-14}\,(\text{mol/L})^2$; a temperaturas por debajo de 25 °C K_w es un poco menor de 10^{-14}, en tanto que a temperaturas superiores a 25 °C es un poco mayor de 10^{-14}. Dentro de las limitaciones declaradas del efecto de la temperatura, K_w es igual a $10^{-14}\,(\text{mol/L})^2$ para todas las soluciones acuosas, incluso soluciones de ácidos o bases. Se usa K_w para calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

EL pH ES EL LOGARITMO NEGATIVO DE LA CONCENTRACIÓN DE ION HIDRÓGENO

El término **pH** fue introducido en 1909 por Sörensen, quien lo definió como el logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno:

$$\text{pH} = -\log[H^+]$$

Esta definición, si bien no es rigurosa, es suficiente para muchos propósitos bioquímicos; a fin de calcular el pH de una solución:

1. Se calcula la concentración de ion hidrógeno $[H^+]$.
2. Se calcula el logaritmo base 10 de $[H^+]$.
3. El pH es el negativo del valor que se encuentra en el paso 2.

Por ejemplo, para agua pura a 25 °C,

$$\text{pH} = -\log[H^+] = -\log 10^{-7} = -(-7) = 7.0$$

Este valor también se conoce como la *potencia* (*power* [inglés], *puissant* [francés], o *potennz* [alemán]) del exponente, de ahí el uso de "p".

Los valores de pH bajos corresponden a concentraciones altas de H^+, y los valores de pH altos corresponden a concentraciones bajas de H^+.

Los ácidos son **donadores de protones** y las bases son **aceptores de protones**. Los **ácidos fuertes** (p. ej., HCl, H_2SO_4) se disocian por completo hacia aniones y protones, incluso en soluciones fuertemente acídicas (pH bajo); por su parte, los **ácidos débiles** se disocian sólo en parte en soluciones acídicas. De modo similar, las **bases fuertes** (p. ej., KOH, NaOH) —no así las **bases débiles** como $Ca(OH)_2$— están por completo disociadas a pH alto. Muchas sustancias bioquímicas son ácidos débiles. Las excepciones son los intermediarios fosforilados, cuyo grupo fosforilo contiene dos protones disociables, el primero de los cuales es fuertemente acídico.

Los ejemplos que siguen ilustran cómo calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

Ejemplo 1: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidrógeno es de 3.2×10^{-4} mol/L?

$$\text{pH} = -\log[H^+]$$
$$= -\log(3.2 \times 10^{-4})$$
$$= -\log(3.2) - \log(10^{-4})$$
$$= -0.5 + 4.0$$
$$= 3.5$$

Ejemplo 2: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidróxido es de 4.0×10^{-4} mol/L? Primero se define una cantidad **pOH** que es igual a $-\log [OH^-]$ y que puede derivarse a partir de la definición de K_w:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14}$$

Por ende,

$$\log[H^+] + \log[OH^-] = \log 10^{-14}$$

o

$$\text{pH} + \text{pOH} = 14$$

Para resolver el problema mediante este método:

$$[OH^-] = 4.0 \times 10^{-4}$$
$$\text{pOH} = -\log[OH^-]$$
$$= -\log(4.0 \times 10^{-4})$$
$$= -\log(4.0) - \log(10^{-4})$$
$$= -0.60 + 4.0$$
$$= 3.4$$

Ahora:

$$\text{pH} = 14 - \text{pOH} = 14 - 3.4$$
$$= 10.6$$

Los ejemplos anteriores ilustran de qué modo la escala de pH logarítmica facilita la emisión de reporte y la comparación de concentraciones de ion hidrógeno que difieren por órdenes de magnitud de otra, esto es, 0.00032 M (pH 3.5) y 0.000000000025 M (pH 10.6).

Ejemplo 3: ¿Cuáles son los valores de pH de a) 2.0×10^{-2} mol/L KOH y de b) 2.0×10^{-6} mol/L KOH? El OH^- surge a partir de dos fuentes: KOH y agua. Dado que el pH está determinado por el $[H^+]$ total (y el pOH por el $[OH^-]$ total), ambas fuentes deben considerarse. En el primer caso, a), la contribución del agua al $[OH^-]$ total es insignificante; es imposible decir lo mismo para el segundo caso, b):

	Concentración (mol/L)	
	(a)	(b)
Molaridad de KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
$[OH^-]$ proveniente de KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
$[OH^-]$ proveniente de agua	1.0×10^{-7}	1.0×10^{-7}
$[OH^-]$ total	2.00001×10^{-2}	2.1×10^{-6}

Una vez que se ha llegado a una decisión acerca de la importancia de la contribución por el agua, es factible calcular el pH como se mencionó.

Los ejemplos anteriores suponen que la base fuerte KOH está por completo disociada en solución y que, entonces, la concentración de iones OH^- fue igual a la del KOH más la presente al principio en el agua. Esta suposición es válida para soluciones diluidas de bases o ácidos fuertes, no así para bases o ácidos débiles. Dado que los electrólitos débiles sólo se disocian un poco en solución, es necesario usar la **constante de disociación** para calcular la concentración de $[H^+]$ (o de $[OH^-]$) producida por una molaridad dada de un ácido (o base) débil antes de calcular el $[H^+]$ total (o el $[OH^-]$ total) y después el pH.

Los grupos funcionales que son ácidos débiles tienen gran importancia fisiológica

Muchas sustancias bioquímicas poseen grupos funcionales que son ácidos o bases débiles. Los grupos carboxilo, los grupos amino y los ésteres fosfato, cuya segunda disociación cae dentro del rango fisiológico, están presentes en proteínas y ácidos nucleicos, en casi todas las coenzimas y en casi todos los metabolitos intermediarios. De este modo, el conocimiento de la disociación de ácidos y bases débiles es básico para entender la influencia del pH intracelular sobre la estructura y la actividad biológica. Las separaciones basadas en carga, como la electroforesis y la cromatografía de intercambio iónico, también se entienden mejor en términos de la conducta de disociación de grupos funcionales.

La especie protonada (p. ej., HA o $R—NH_3^+$) recibe la denominación de **ácido**, en tanto que la especie no protonada (p. ej., A^- o $R—NH_2$) es su **base conjugada**. De modo similar, puede hacerse referencia a una **base** (p. ej., A^- o $R—NH_2$) y su **ácido conjugado** (p. ej., HA o $R—NH_3^+$).

Las fuerzas relativas de ácidos y bases débiles se expresan en términos de sus constantes de disociación. A continuación se muestran las expresiones para la constante de disociación (K_a) para dos ácidos débiles representativos, R—COOH y $R—NH_3^+$.

$$R—COOH \rightleftarrows R—COO^- + H^+$$
$$K_a = \frac{[R—COO^-][H^+]}{[R—COOH]}$$
$$R—NH_3^+ \rightleftarrows R—NH_2 + H^+$$
$$K_a = \frac{[R—NH_2][H^+]}{[R—NH_3^+]}$$

Puesto que los valores numéricos de K_a para ácidos débiles son números exponenciales negativos, K_a se expresa como pK_a, donde

$$pK_a = -\log K_a$$

Note que la pK_a está relacionada con la K_a como el pH lo está con el $[H^+]$. Mientras más fuerte es el ácido, más bajo es su valor de pK_a.

Los ácidos débiles representativos (izquierda), sus bases conjugadas (centro), y valores de pK_a (derecha) incluyen los que siguen:

$R—CH_2—COOH$	$R—CH_2COO^-$	$pK_a = 4-5$
$R—CH_2—NH_3^+$	$R—CH_2—NH_2$	$pK_a = 9-10$
H_2CO_3	HCO_3^-	$pK_a = 6.4$
$H_2PO_4^-$	HPO_4^{-2}	$pK_a = 7.2$

La pK_a se usa para expresar las fuerzas relativas tanto de ácidos como de bases. Para cualquier ácido débil, su conjugado es una base fuerte; de modo similar, el conjugado de una base fuerte es un ácido débil. **Las fuerzas relativas de bases se expresan en términos de la pK_a de sus ácidos conjugados.** Para compuestos polipróticos que contienen más de un protón disociable, se asigna un número subíndice a cada disociación, comenzando a partir de la unidad en orden decreciente de acidez relativa. Para una disociación del tipo

$$R—NH_3^+ \rightarrow R—NH_2 + H^+$$

el pK_a es el pH al cual la concentración del ácido $R—NH_3^+$ es igual a la de la base $R—NH_2$.

A partir de las ecuaciones anteriores que relacionan la K_a con el $[H^+]$ y con las concentraciones de ácido no disociado y su base conjugadas, cuando

$$[R—COO^-] = [R—COOH]$$

o cuando

$$[R—NH_2] = [R—NH_3^+]$$

entonces

$$K_a = [H^+]$$

De este modo, cuando las especies asociada (protonada) y disociada (base conjugada) están presentes a iguales concentraciones, la concentración de ion hidrógeno $[H^+]$ prevaleciente es igual desde el punto de vista numérico a la constante de disociación, K_a. Si se toman los logaritmos de ambos lados de la ecuación anterior y se multiplican por -1, las expresiones quedan como sigue:

$$K_a = [H^+]$$
$$-\log K_a = -\log[H^+]$$

Dado que $-\log K_a$ se define como pK_a y $-\log [H^+]$ define al pH, la ecuación puede reescribirse como

$$pK_a = pH$$

esto es, **la pK_a de un grupo ácido es el pH al cual las especies protonada y no protonada están presentes a concentraciones iguales.** La pK_a para un ácido puede determinarse al añadir 0.5 equivalente de álcali por equivalente de ácido. El pH resultante será igual a la pK_a del ácido.

La ecuación de Henderson-Hasselbalch describe el comportamiento de ácidos débiles y amortiguadores

La ecuación de Henderson-Hasselbach se deduce a continuación.

Un ácido débil, HA, se ioniza como sigue:

$$HA \rightleftarrows H^+ + A^-$$

La constante de equilibrio para esta disociación es

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

La multiplicación cruzada da

$$[H^+][A^-] = K_a[HA]$$

Se dividen ambos lados por $[A^-]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se toma el logaritmo de ambos lados:

$$\log[H^+] = \log\left(K_a \frac{[HA]}{[A^-]}\right)$$
$$= \log K_a + \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se multiplica todo por -1:

$$-\log[H^+] = -\log K_a - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se sustituye el pH y la pK_a para $-\log [H^+]$ y $-\log K_a$, respectivamente; entonces:

$$pH = pK_a - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

La inversión del último término elimina el signo de menos y da la **ecuación de Henderson-Hasselbach**:

$$\mathbf{pH = pK_a + \log\frac{[A^-]}{[HA]}}$$

La ecuación de Henderson-Hasselbalch tiene gran valor predictivo en equilibrios protónicos. Por ejemplo,

1. Cuando exactamente la mitad de un ácido está neutralizada, $[A^-] = [HA]$. En estas condiciones,

$$pH = pK_a + \log\frac{[A^-]}{[HA]} = pK_a + \log\left(\frac{1}{1}\right) = pK_a + 0$$

   Por ende, cuando la mitad de un ácido está neutralizada, pH w= pK_a.
2. Cuando la proporción $[A^-]/HA] = 100{:}1$,

$$pH = pK_a + \log\frac{[A^-]}{[HA]}$$
$$pH = pK_a + \log(100/1) = pK_a + 2$$

3. Cuando la proporción $[A^-]/HA] = 1{:}10$,

$$pH = pK_a + \log(1/10) = pK_a + (-1)$$

Si la ecuación se evalúa a proporciones de $[A^-]/[HA]$ que varían desde 10^3 hasta 10^{-3} y se grafican los valores de pH calculados, el gráfico resultante describe la curva de titulación para un ácido débil (**figura 2-5**).

Las soluciones de ácidos débiles y sus sales amortiguan cambios del pH

Las soluciones de ácidos o bases débiles y sus conjugados muestran **amortiguación**, la capacidad para resistir a un cambio del pH después de la adición de un ácido o una base fuerte. Muchas reacciones metabólicas se acompañan de liberación o captación de protones. El metabolismo oxidativo produce CO_2, el anhídrido del ácido carbónico, que de no amortiguarse produciría acidosis grave. El mantenimiento biológico de un pH constante comprende amortiguación mediante fosfato, bicarbonato y proteínas, que aceptan o liberan protones para resistir a un cambio del pH. En experimentos de laboratorio donde se usan extractos de tejido o enzimas, el pH constante se mantiene por medio de

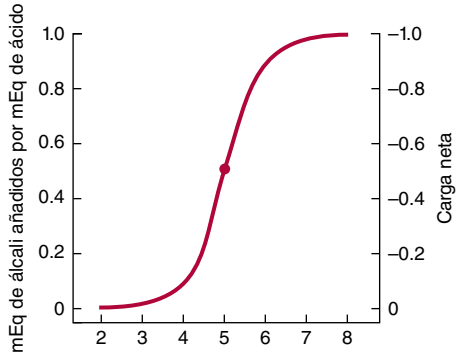


FIGURA 2-5 Curvas de titulación para un ácido del tipo HA. El punto grueso, en el centro de la curva, indica la pK_a de 5.0.

la adición de amortiguadores como MES (ácido [2-*N*-morfolino] etanosulfónico, pK_a 6.1), ortofosfato inorgánico (pK_{a2} 7.2), HEPES (ácido *N*-hidroxietilpiperazina-*N*'-2-etanosulfónico, pK_a 6.8) o Tris (tris[hidroximetil] aminometano, pK_a 8.3). El valor de pK_a respecto al pH deseado es el principal determinante de cuál amortiguador se selecciona.

La amortiguación se observa al usar un medidor de pH mientras se titula un ácido o una base débil (figura 2-5). También es factible calcular la desviación de pH que acompaña a la adición de ácido o base a una solución amortiguada. En el ejemplo a continuación, la solución amortiguada (un ácido débil, pK_a = 5.0, y su base conjugada) se encuentra, al inicio, en uno de cuatro valores de pH; se calcula el cambio de pH producido cuando se añaden 0.1 mEq de KOH a 1 mEq de cada solución:

pH inicial	5.00	5.37	5.60	5.86
$[A^-]_{inicial}$	0.50	0.70	0.80	0.88
$[HA]_{inicial}$	0.50	0.30	0.20	0.12
$([A^-]/[HA])_{inicial}$	1.00	2.33	4.00	7.33
La adición de 0.1 mEq de KOH produce				
$[A^-]_{final}$	0.60	0.80	0.90	0.98
$[HA]_{final}$	0.40	0.20	0.10	0.02
$([A^-]/[HA])_{final}$	1.50	4.00	9.00	49.0
log $([A^-]/[HA])_{final}$	0.18	0.60	0.95	1.69
pH final	5.18	5.60	5.95	6.69
ΔpH	**0.18**	**0.60**	**0.95**	**1.69**

Note que el cambio de ΔpH por mEq de OH^- añadido depende del pH inicial. La solución se resiste a cambios del pH con mayor eficacia a valores de pH cercanos a la pK_a. **Una solución de un ácido débil y su base conjugada amortigua de manera más eficaz en el rango de pH de pK_a ± 1.0 unidades de pH.**

La figura 2-5 también ilustra la carga neta en una molécula del ácido como una función del pH. Una carga fraccionaria de −0.5 no significa que una molécula individual porta una carga fraccionaria sino que la *probabilidad* es de 0.5 de que una molécula dada tenga una carga negativa de unidad en cualquier momento dado en el tiempo. La consideración de la carga neta sobre macromoléculas como una función del pH proporciona la base para técnicas de separación, como la cromatografía de intercambio de ion y la electroforesis.

La fuerza del ácido depende de la estructura molecular

Muchos ácidos de interés biológico poseen más de un grupo que se disocia. La presencia de carga negativa adyacente obstaculiza la liberación de un protón desde un grupo cercano, lo que aumenta su pK_a. Esto queda de manifiesto a partir de los valores de pK_a para los tres grupos que se pueden disociar de ácido fosfórico y ácido cítrico (**cuadro 2-2**). El efecto de la carga adyacente disminuye con la distancia. La segunda pK_a para el ácido succínico, que tiene dos grupos metileno entre sus grupos carboxilo, es de 5.6, mientras que la segunda pK_a para el ácido glutárico, que tiene un grupo metileno adicional, es de 5.4.

CUADRO 2-2 Fuerzas relativas de ácidos seleccionados de importancia biológica

Ácidos monopróticos		
Fórmico	pK	3.75
Láctico	pK	3.86
Acético	pK	4.76
Ion amonio	pK	9.25
Ácidos dipróticos		
Carbónico	pK_1	6.37
	pK_2	10.25
Succínico	pK_1	4.21
	pK_2	5.64
Glutárico	pK_1	4.34
	pK_2	5.41
Ácidos tripróticos		
Fosfórico	pK_1	2.15
	pK_2	6.82
	pK_3	12.38
Cítrico	pK_1	3.08
	pK_2	4.74
	pK_3	5.40

Nota: los valores tabulados son los valores de pK_a (−log de la constante de disociación) de ácidos monopróticos, dipróticos y tripróticos seleccionados.

Los valores de pK_a dependen de las propiedades del medio

El pK_a de un grupo funcional también está profundamente influido por el medio circundante. El medio puede aumentar o disminuir la pK_a dependiendo de si el ácido no disociado o su base conjugada es la especie cargada. El efecto de la constante dieléctrica sobre la pK_a se observa al añadir etanol a agua. La pK_a de un ácido carboxílico *aumenta,* mientras que la de una amina *disminuye* porque el etanol aminora la capacidad del agua para solvatar una especie cargada. De este modo, los valores pK_a de grupos que se están disociando en los interiores de proteínas, están muy afectados por su ambiente local, lo que incluye la presencia o ausencia de agua.

RESUMEN

- El agua forma agrupaciones enlazadas por hidrógeno consigo misma y con otros donadores o aceptores de protones. Los enlaces de hidrógeno explican la tensión superficial, viscosidad, estado líquido a temperatura ambiente y el poder solvente del agua.
- Los compuestos que contienen O, N o S pueden servir como donadores o aceptores de enlaces de hidrógeno.

- Las fuerzas entrópicas dictan que las macromoléculas exponen regiones polares a una interfaz acuosa y sepultan regiones no polares.
- Los puentes de sal, las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de Van der Waals participan en el mantenimiento de la estructura molecular.
- El pH es el logaritmo negativo de $[H^+]$. Un pH bajo caracteriza a una solución ácida, mientras que un pH alto denota una solución básica.
- La fuerza de ácidos débiles se expresa mediante la pK_a, el logaritmo negativo de la constante de disociación de ácido. Los ácidos fuertes tienen valores de pK_a bajos, en tanto que los débiles muestran valores de pK_a altos.
- Los amortiguadores resisten a un cambio del pH cuando se producen o consumen protones. La capacidad amortiguadora máxima ocurre ± 1 unidad de pH a uno u otro lado de la pK_a. Los amortiguadores fisiológicos son bicarbonato, ortofosfato y proteínas.

REFERENCIAS

Reese KM: Whence came the symbol pH. Chem & Eng News 2004;82:64.

Segel IM: *Biochemical Calculations.* Wiley, 1968.

Skinner JL: Following the motions of water molecules in aqueous solutions. Science 2010;328:985.

Stillinger FH: Water revisited. Science 1980;209:451.

Suresh SJ, Naik VM: Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data. J Chem Phys 2000;113:9727.

Wiggins PM: Role of water in some biological processes. Microbiol Rev 1990;54:432.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 3

Aminoácidos y péptidos

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Dibujar un diagrama de las estructuras y escribir las designaciones de tres letras y de una letra para cada uno de los aminoácidos presentes en las proteínas.
- Describir la contribución de cada tipo de grupo R de los aminoácidos de proteínas a sus propiedades químicas.
- Listar funciones clave adicionales de los aminoácidos y explicar cómo ciertos aminoácidos en semillas de plantas pueden tener repercusiones graves sobre la salud humana.
- Nombrar los grupos ionizables de los aminoácidos de proteínas y listar sus valores de pK_a aproximados como aminoácidos libres en solución acuosa.
- Calcular el pH de una solución acuosa no amortiguada de un aminoácido polifuncional y el cambio del pH que ocurre después de la adición de una cantidad dada de ácido o álcali fuerte.
- Definir el pI, y explicar su relación con la carga neta en un electrólito polifuncional.
- Explicar cómo el pH, la pK_a y el pI pueden usarse para predecir la movilidad de un polielectrólito, como un aminoácido, en un campo eléctrico de corriente continua.
- Describir la direccionalidad, nomenclatura y estructura primaria de los péptidos.
- Describir las consecuencias conformacionales del carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico, e identificar los enlaces en el esqueleto peptídico que están libres para rotar.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de proporcionar las unidades de monómero a partir de las cuales se sintetizan las cadenas polipeptídicas largas de las proteínas, los L-α-aminoácidos y sus derivados participan en funciones celulares tan diversos como la transmisión nerviosa y la biosíntesis de porfirinas, purinas, pirimidinas y urea. El sistema neuroendocrino emplea polímeros cortos de aminoácidos llamados péptidos como hormonas, factores liberadores de hormona, neuromoduladores, y neurotransmisores. Los humanos y otros animales superiores no pueden sintetizar 10 de los L-α-aminoácidos presentes en las proteínas, en cantidades adecuadas para apoyar el crecimiento infantil o para mantener la salud de adultos. En consecuencia, la dieta humana debe contener cantidades adecuadas de estos aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional. Cada día los riñones filtran más de 50 g de aminoácidos libres a partir de la sangre arterial renal. Sin embargo, en circunstancias normales sólo aparecen trazas de aminoácidos libres en la orina porque los aminoácidos se resorben casi en su totalidad en el túbulo proximal, y los conserva para la síntesis de proteína y otras funciones vitales. Empero, no todos los aminoácidos son beneficiosos. Si bien sus proteínas sólo contienen L-α-aminoácidos, algunos microorganismos secretan mezclas de D-aminoácidos. Muchas bacterias elaboran péptidos que contienen tanto D- como L-α-aminoácidos, varios de los cuales poseen valor terapéutico, incluso los antibióticos bacitracina y gramicidina A, y el fármaco antitumoral bleomicina. Hay otros péptidos microbianos que son tóxicos. Los péptidos cianobacterianos microcistina y nodularina son mortíferos en dosis grandes, mientras que las cantidades pequeñas promueven la formación de tumores hepáticos. La ingestión de ciertos aminoácidos presentes en las semillas de leguminosas del género *Lathyrus* da por resultado latirismo, una enfermedad irreversible trágica en la cual los individuos pierden el control de las extremidades. Ciertos aminoácidos de semillas de plantas también han quedado implicados en la enfermedad neurodegenerativa en nativos de Guam.

PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS

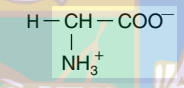
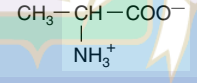
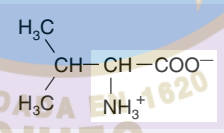
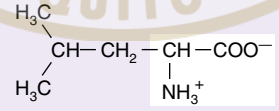
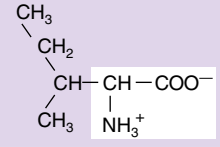
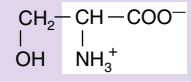
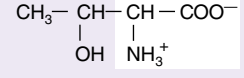
El código genético especifica 20 L-α-aminoácidos

Si bien hay más de 300 aminoácidos en la Naturaleza, las proteínas se sintetizan de manera casi exclusiva a partir del grupo de 20 L-α-aminoácidos codificados por tripletes de nucleótidos llamados **codones** (vea cuadro 37-1). Si bien el código genético de tres letras en potencia podría dar cabida a más de 20 aminoácidos, el código genético es redundante porque varios aminoácidos son especificados por múltiples codones. Los científicos a menudo representan las secuencias de péptidos y proteínas usando abreviaturas de una y tres letras para cada aminoácido (**cuadro 3-1**); estos aminoácidos pueden caracterizarse como hidrofílicos o hidrofóbicos (**cuadro 3-2**), propiedades que afectan su ubicación en la conformación plegada madura de una proteína (vea capítulo 5). Algunas proteínas contienen aminoácidos adicionales que surgen por la modificación **postraduccional** de un aminoácido ya presente en un péptido. Los ejemplos incluyen la conversión de peptidil prolina y peptidil lisina en 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina; la conversión de peptidil-glutamato en γ-carboxiglutamato, y la metilación, formilación, acetilación, prenilación, y fosforilación de ciertos residuos aminoacilo. Estas modificaciones extienden de manera significativa la diversidad biológica de proteínas al alterar su solubilidad, estabilidad, actividad catalítica e interacción con otras proteínas.

Selenocisteína, el vigésimo primer L-α-aminoácido de proteína

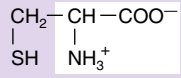
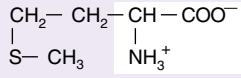
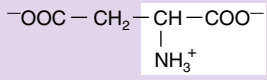
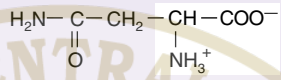
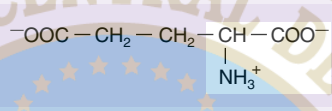
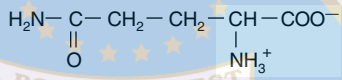
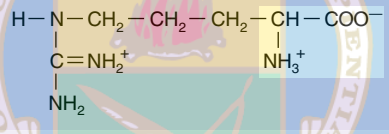
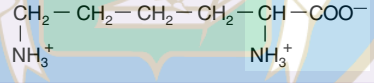
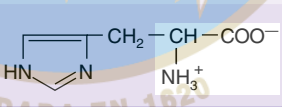
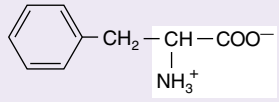
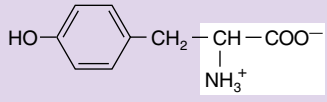
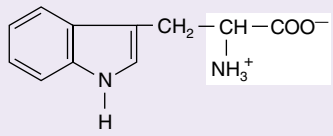
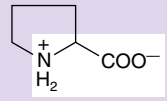
La selenocisteína (**figura 3-1**) es un L-α-aminoácido que se encuentra en las proteínas de todos los ámbitos de la vida. Los humanos tienen alrededor de dos docenas de selenoproteínas que incluyen ciertas peroxidasas y reductasas, selenoproteína P, que circula en el plasma, y las yodotironinas deiodinasas que se encargan de convertir la prohormona tiroxina (T4) en la hormona tiroidea 3,3'5-triyodotironina (T3) (vea capítulo 41). Como su nombre lo indica, un átomo de selenio reemplaza el azufre de su análogo elemental, cisteína. La selenocisteína no es el producto de una modificación postraduccional, sino que es insertada directamente en un polipéptido en crecimiento durante la traducción. De este modo, la selenocisteína comúnmente es denominada el "vigésimo primer aminoácido". No obstante, a diferencia de los otros 20 aminoácidos de proteínas, la incorporación de selenocisteína es especificada por un elemento

CUADRO 3-1 L-α-aminoácidos presentes en proteínas

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales alifáticas			**α-COOH**	**α-NH_3^+**	**Grupo R**
Glicina	Gli [G]		2.4	9.8	
Alanina	Ala [A]		2.4	9.9	
Valina	Val [V]		2.2	9.7	
Leucina	Leu [L]		2.3	9.7	
Isoleucina	Ile [I]		2.3	9.8	
Con cadenas laterales que contienen grupos hidroxílicos (OH)					
Serina	Ser [S]		2.2	9.2	alrededor de 13
Treonina	Tre [T]		2.1	9.1	alrededor de 13
Tyrosina	Tir [Y]	Véase antes.			

(continúa)

CUADRO 3-1 L-α-aminoácidos presentes en proteínas (*continuación*)

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales que contienen átomos de azufre			**α-COOH**	**α-NH_3^+**	**Grupo R**
Cisteína	Cis [C]		1.9	10.8	8.3
Metionina	Met [M]		2.1	9.3	
Con cadenas laterales que contienen grupos ácidos o sus amidas					
Ácido aspártico	Asp [D]		2.1	9.9	3.9
Asparagina	Ans [N]		2.1	8.8	
Ácido glutámico	Glu [E]		2.1	9.5	4.1
Glutamina	Gln [Q]		2.2	9.1	
Con cadenas laterales que contienen grupos básicos					
Arginina	Arg [R]		1.8	9.0	12.5
Lisina	Lis [K]		2.2	9.2	10.8
Histidina	His [H]		1.8	9.3	6.0
Que contienen anillos aromáticos					
Histidina	His [H]	Véase antes.			
Fenilalanina	Fen [F]		2.2	9.2	
Tirosina	Tir [Y]		2.2	9.1	10.1
Triptófano	Trp [W]		2.4	9.4	
Iminoácido					
Prolina	Pro [P]		2.0	10.6	

CUADRO 3-2 Aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos

Hidrofílicos	Hidrofóbicos
Ácido aspártico	Alanina
Ácido glutámico	Fenilalanina
Arginina	Isoleucina
Asparagina	Leucina
Cisteína	Metionina
Glicina	Prolina
Glutamina	Tirosina
Histidina	Triptófano
Lisina	Valina
Serina	
Treonina	

La distinción se basa en la tendencia a asociarse con un ambiente acuoso o a minimizar el contacto con el mismo.

genético grande y complejo para el tRNA poco común llamado $tRNA^{Sec}$ que utiliza el anticodón UGA que normalmente emite una señal de paro. Sin embargo, el aparato sintético de proteínas puede identificar un codón UGA específico para selenocisteína por la presencia de una estructura de tallo-bucle acompañante, el elemento de inserción de selenocisteína, en la región no traducida del mRNA (vea capítulo 27).

Estereoquímica de los aminoácidos proteína

Con la única excepción de la glicina, el carbono α de cada aminoácido es quiral. Si bien algunos aminoácidos de proteína son dextrógiros y algunos son levógiros, todos comparten la configuración absoluta de L-gliceraldehído y, así, se definen como L-α-aminoácidos. Aun cuando casi todos los aminoácidos de proteína son (R), el fracaso para usar (R) o (S) para expresar estereoquímica absoluta no es una mera aberración histórica. La L-cisteína es (S) porque la masa atómica del átomo de azufre en C-3 excede la del grupo amino en C2. Lo que es más importante, en mamíferos las reacciones bioquímicas de los L-α-aminoácidos, sus precursores y sus catabolitos son catalizadas por enzimas que actúan exclusivamente sobre L-isómeros, independientemente de su configuración absoluta.

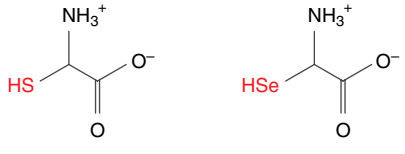


FIGURA 3-1 Cisteína (izquierda) y selenocisteína (derecha). La pK_3 para el protón selenilo de la selenocisteína es 5.2. Dado que esto es 3 unidades de pH más bajo que las de la cisteína, la selenocisteína representa un mejor nucleófilo a pH de 7.4 o menor.

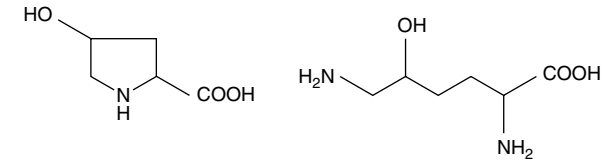


FIGURA 3-2 4-Hidroxiprolina y 5-hidroxilisina.

Las modificaciones postraduccionales confieren propiedades adicionales

Si bien algunos procariontes incorporan pirrolisina en proteínas y las plantas pueden incorporar ácido azetidina-2-carboxílico, un análogo de la prolina, un grupo de sólo 21 L-α-aminoácidos basta claramente para la formación de casi todas las proteínas. Empero, las modificaciones postraduccionales pueden generar grupos R nuevos que imparten propiedades adicionales. En el colágeno, por ejemplo, los residuos de prolina y de lisina unidos a proteína son convertidos en 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina (**figura 3-2**). La carboxilación de los residuos glutamilo de proteínas de la cascada de la coagulación a residuos γ-carboxiglutamil (**figura 3-3**) forma un grupo quelante para el ion calcio esencial para la coagulación de la sangre. Las cadenas laterales de aminoácidos de las histonas están sujetas a muchas modificaciones, incluso acetilación y metilación de lisina, y metilación y desaminación de arginina (vea capítulos 35 y 37). Ahora también es posible en el laboratorio introducir genéticamente muchos aminoácidos no naturales diferentes en proteínas, lo cual genera proteínas por medio de la expresión de gen recombinante con propiedades nuevas o mejoradas, y proporciona una nueva manera de explorar las relaciones entre estructura y función de las proteínas.

Se han detectado aminoácidos extraterrestres en meteoritos

En febrero de 2013, la explosión de un meteorito de aproximadamente 20 000 toneladas métricas en el cielo de Cheliábinsk, Siberia Occidental, demostró de manera impresionante el poder destructivo potencial de esos cuerpos extraterrestres; sin embargo, no todos los efectos de los meteoros son necesariamente indeseables. Algunos meteoritos, los restos de asteroides que han alcanzado la Tierra, contienen trazas de varios α-aminoácidos. Estos incluyen los aminoácidos Ala, Asp, Glu, Gli, Ile, Leu, Fen, Ser, Tre, Tir y Val, así como α-aminoácidos no proteína importantes desde el punto de vista biológico, como *N*-metilglicina (sarcosina) y β-alanina.

Los aminoácidos extraterrestres se reportaron por vez primera en 1969 después del análisis del famoso meteorito de Murchison del sudeste de Australia. Ahora se ha confirmado ampliamente la presencia de aminoácidos en otros meteoritos, incluso

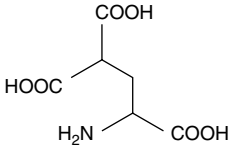


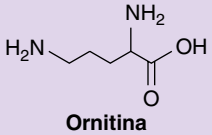
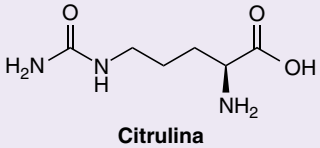
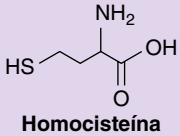
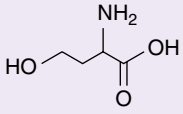
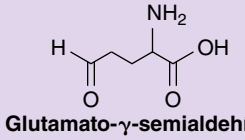
FIGURA 3-3 Ácido γ-carboxiglutámico.

algunos ejemplos prístinos de la Antártida. A diferencia de los aminoácidos terrestres, estos meteoritos contienen mezclas racémicas de D- y L-isómeros de aminoácidos de 3 a 5 carbonos, así como muchos aminoácidos adicionales que carecen de homólogos terrestres de origen biótico. Además, también se han detectado en meteoritos nucleobases, fosfatos activados y moléculas relacionadas con azúcares. Estos datos ofrecen información potencial acerca de la química prebiótica de la Tierra y tienen repercusiones sobre la búsqueda de vida extraterrestre. Algunos especulan que, al suministrar moléculas orgánicas generadas fuera de la Tierra a la Tierra primitiva, los meteoritos pueden haber contribuido al origen de la vida en el planeta.

Los L-α-aminoácidos desempeñan funciones metabólicas adicionales

Los L-α-aminoácidos satisfacen funciones metabólicas vitales además de servir como los "bloques de construcción" de proteínas. Como se comenta en capítulos posteriores, las hormonas tiroideas se forman a partir de tirosina; el glutamato sirve como un neurotransmisor, y como el precursor del ácido γ-aminobutírico (GABA); la ornitina y la citrulina son intermediarios en la biosíntesis de la urea, y la homocisteína, la homoserina y el glutamato-γ-semialdehído participan en el metabolismo intermediario de los aminoácidos proteína (cuadro 3-3). Los aminoácidos proteína de fenilalanina y tirosina sirven como precursores de la epinefrina, la norepinefrina y la DOPA (dihidroxifenilalanina).

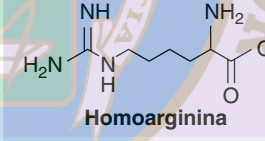
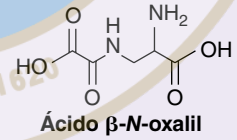
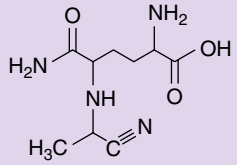
CUADRO 3-3 Ejemplos de L-α-aminoácidos no proteína

Aminoácido	Función
 **Ornitina**	Intermediario en la síntesis de urea (**figura 28-13**)
 **Citrulina**	Intermediario en la síntesis de urea (**figura 28-13**).
 **Homocisteína**	Intermediario en la biosíntesis de cisteína (**figura 27-9**).
 **Homoserina**	Producto de la biosíntesis de cisteína (**figura 27-9**).
 **Glutamato-γ-semialdehído**	Catabolito de la serina (**figura 29-3**).

Ciertos L-α-aminoácidos de plantas pueden tener repercusiones adversas sobre la salud de los humanos

El consumo de ciertos aminoácidos no proteína presentes en plantas puede tener repercusiones adversas sobre la salud humana. Las semillas y los productos de semillas de tres especies de la leguminosa *Lathyrus* han quedado implicados en la génesis del neurolatirismo, un profundo trastorno neurológico caracterizado por parálisis espástica progresiva e irreversible de las piernas. El latirismo ocurre ampliamente durante hambrunas, cuando las semillas de *Lathyrus* representan una contribución importante a la dieta. Los L-α-aminoácidos que han quedado implicados en trastornos neurológicos de humanos, entre los que destacan el neurolatirismo (**cuadro 3-4**) incluyen L-homoarginina y ácido β-*N*-oxalil-L-α,β- diaminopropiónico (β-ODAP). Las semillas del "guisante de olor", una leguminosa *Lathyrus* que se consume ampliamente durante hambrunas, contiene el osteolatirógeno γ-glutamil-β- aminopropionitrilo (BAPN), un derivado glutamina del β-aminopropionitrilo (cuya estructura no se muestra). Las semillas de ciertas especies de *Lathyrus* también contienen ácido α, γ-diaminobutírico, un análogo de la ornitina, que inhibe la enzima del ciclo de la urea hepático ornitina transcarbamilasa; la alteración resultante del ciclo de la urea lleva a toxicidad por amoníaco. Por último, la L-β-metilaminoalanina, un aminoácido neurotóxico presente en semillas de *Cycad,* ha quedado implicada

CUADRO 3-4 L-α-aminoácidos en potencia tóxicos

L-α-aminoácido no proteína	Importancia médica
 **Homoarginina**	Dividido por arginasa a L-glicina y urea. Implicado en el neurolatirismo de humanos.
 **Ácido β-*N*-oxalil diaminopropiónico (β-ODAP)**	Una neurotoxina. Implicado en el neurolatirismo de humanos.
 **β-*N*-Glutamilamino-propionitrilo (BAPN)**	Un osteolatirógeno.
 **Ácido 2,4-diaminobutírico**	Inhibe la ornitina transcarbamilasa, lo que da por resultado toxicidad por amoníaco.
 **β-Metilaminoalanina**	Posible factor de riesgo para enfermedades neurodegenerativas.

como un factor de riesgo para enfermedades neurodegenerativas, entre ellas el complejo parkinsonismo-demencia-esclerosis lateral amiotrófica en nativos de Guam que consumen murciélagos de la fruta que se alimentan de fruta de cica, o harina de semillas de cica.

D-aminoácidos

Los D-aminoácidos que ocurren de manera natural comprenden D-serina y D-aspartato libres en el tejido cerebral, D-alanina y D-glutamato en las paredes celulares de bacterias grampositivas, y D-aminoácidos en ciertos péptidos y antibióticos producidos por bacterias, hongos, reptiles y otras especies no de mamíferos. *Bacillus subtilis* excreta D-metionina, D-tirosina, D-leucina y D-triptófano para desencadenar desmontaje de biopelícula, y *Vibrio cholerae* incorpora D-leucina y D-metionina en el componente peptídico de su capa de peptidoglicano.

PROPIEDADES DE LOS GRUPOS FUNCIONALES DE LOS AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos pueden tener carga neta positiva, negativa, o cero

En solución acuosa, las formas cargadas y no cargadas de los grupos ácidos débiles ionizables —COOH y $—NH_3^+$ existen en equilibrio protónico dinámico:

$$R—COOH \rightleftarrows R—COO^- + H^+$$
$$R—NH_3^+ \rightleftarrows R—NH_2 + H^+$$

Si bien tanto R—COOH como $R—NH_3^+$ son ácidos débiles, R—COOH es un ácido mucho más fuerte que $R—NH_3^+$. De este modo, a pH fisiológico (pH de 7.4), los grupos carboxilo existen casi en su totalidad como $R—COO^-$, y los grupos amino predominantemente como $R—NH_3^+$. El grupo imidazol de la histidina y el grupo guanidino de la arginina existen como híbridos de resonancia con carga positiva distribuidos entre dos nitrógenos (histidina) o tres nitrógenos (arginina) (**figura 3-4**). Las **figuras 3-5** y **3-6** ilustran el efecto que el pH del ambiente acuoso tiene sobre el estado cargado del ácido aspártico y la lisina, respectivamente.

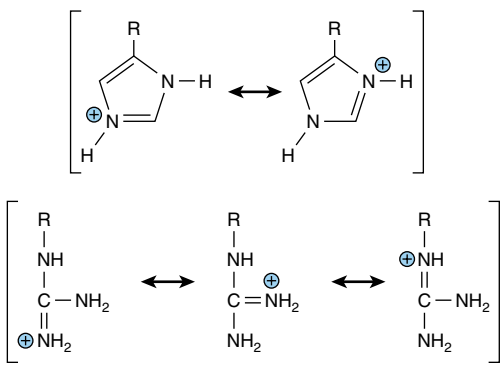
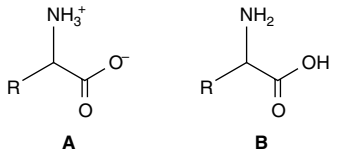


FIGURA 3-4 Híbridos de resonancia de los grupos R protonados de la histidina (arriba) y de la arginina (abajo).

Las moléculas que contienen un número igual de grupos con carga positiva y con carga negativa no tienen carga *neta*; estas especies neutras ionizadas se denominan **zwitteriones**. De este modo, los aminoácidos en la sangre y en casi todos los tejidos deben representarse como en **A,** a continuación.



A **B**

La estructura **B** no puede existir en solución acuosa porque a cualquier pH suficientemente bajo como para protonar el grupo carboxilo, el grupo amino también sería protonado. De modo similar, a cualquier pH lo bastante alto como para que predomine un grupo amino sin carga, un grupo carboxilo estará presente como $R—COO^-$. No obstante, la representación **B** no cargada se utiliza a menudo cuando se hacen diagramas de reacciones que no involucran equilibrios protónicos.

Los valores de pK_a expresan las potencias de ácidos débiles

Las potencias de ácidos débiles se expresan como su **pK_a.** Para moléculas que tienen múltiples protones disociables, la pK_a para cada grupo ácido es designada al reemplazar la letra en subíndice "a" por un número. La carga neta en un aminoácido —la suma algebraica de todos los grupos con carga positiva y con carga negativa presentes— depende de los valores de pK_a de esos grupos funcionales, y del pH del medio circundante. En el laboratorio, la alteración de la carga en aminoácidos y sus derivados al variar el pH facilita la separación física de aminoácidos, péptidos y proteínas (capítulo 4).

A su pH isoeléctrico (pI), un aminoácido no porta carga neta

Los zwitteriones son un ejemplo de especies isoeléctricas —la forma de una molécula que tiene igual número de cargas positivas y negativas y, así, es eléctricamente neutra—. El pH isoeléctrico, también llamado el pI, es el pH en el punto medio entre los valores de pK_a para las ionizaciones a cada lado de las especies isoeléctricas. Para un aminoácido como la alanina que sólo tiene dos grupos que se disocian, no hay ambigüedad. La primera pK_a (R—COOH) es de 2.35, y la segunda pK_a ($R—NH_3^+$) es 9.69. De este modo, el pH isoeléctrico (pI) de la alanina es:

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2} = \frac{2.35 + 9.69}{2} = 6.02$$

Para ácidos polipróticos, el pI también es el pH que está a la mitad entre los valores de pK_a a cada lado de la especie isoiónica. Por ejemplo, el pI para el ácido aspártico es:

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2} = \frac{2.09 + 3.96}{2} = 3.02$$

Para la lisina, el pI se calcula a partir de:

$$pI = \frac{pK_2 + pK_3}{2}$$

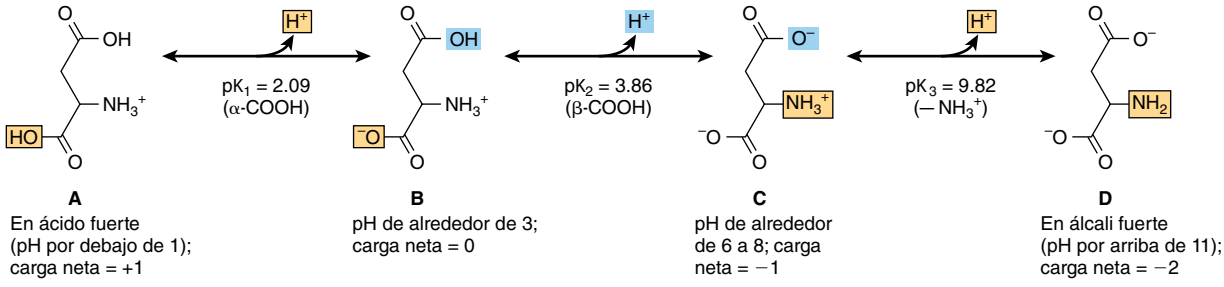


FIGURA 3-5 **Equilibrios protónicos del ácido aspártico.**

Se aplican consideraciones similares a todos los ácidos polipróticos (p. ej., proteínas), independientemente del número de grupos disociables presentes. En el laboratorio clínico, el conocimiento del pI guía la selección de condiciones para separaciones electroforéticas. Por ejemplo, dos aminoácidos simples (con un grupo COOH y un grupo NH_3^+) pueden separarse mediante electroforesis a un pH ácido o básico que explota diferencias sutiles de la carga neta con base en diferencias sutiles de los valores de pK_1 o pK_2. Se aplican consideraciones similares al entendimiento de separaciones cromatográficas sobre soportes iónicos como dietilaminoetil (DEAE) celulosa (capítulo 4).

Los valores de pK_a varían con el ambiente

El ambiente de un grupo disociable afecta su pK_a (**cuadro 3-5**). De este modo, un ambiente no polar, que posee menos capacidad que el agua para estabilizar especies cargadas, *aumenta* la pK_a de un grupo carboxilo, lo que hace de él un ácido *más débil*, pero *disminuye* la pK_a de un grupo amino, lo que hace de él un ácido *más fuerte*. De modo similar, la presencia de un grupo con carga *opuesta* adyacente puede *estabilizar*, o de un grupo con carga *similar* puede *desestabilizar*, una carga en desarrollo. Por ende, los valores de pK_a de los grupos R de aminoácidos libres en solución acuosa (**cuadro 3-1**) sólo proporcionan una guía aproximada de sus valores de pK_a cuando están presentes en proteínas. Así, la pK_a de una cadena lateral de aminoácido dependerá de su ubicación dentro de una proteína dada. Los valores de pK_a que divergen desde solución acuosa hasta 3 unidades de pH son comunes en los sitios activos de enzimas. Un ejemplo extremo, un ácido aspártico sepultado de la tiorredoxina, tiene una pK_a por arriba de 9 —¡un cambio de más de 6 unidades de pH!—.

CUADRO 3-5 **Rango típico de valores de pKa para grupos ionizables en proteínas**

Grupo en disociación	Rango de pK_a
α-Carboxilo	3.5 a 4.0
COOH no-α de Asp o Glu.	4.0 a 4.8
Imidazol de His	6.5 a 7.4
SH de Cis	8.5 a 9.0
OH de Tir	9.5 a 10.5
α-Amino	8.0 a 9.0
ε-Amino de Lis	9.8 a 10.4
Guanidinio de Arg	~ 12.0

La solubilidad de los aminoácidos refleja su carácter iónico

Las cargas conferidas por los grupos funcionales disociables de aminoácidos aseguran que son fácilmente solvatados por —y, así, son solubles en— solventes polares, como agua y etanol, pero insolubles en solventes no polares, como benceno, hexano, o éter.

Los aminoácidos no absorben la luz visible y, así, son incoloros. Empero, la tirosina, la fenilalanina y en especial el triptófano absorben luz ultravioleta de longitud de onda alta (250 a 290 nm). Dado que absorbe luz ultravioleta con eficiencia alrededor

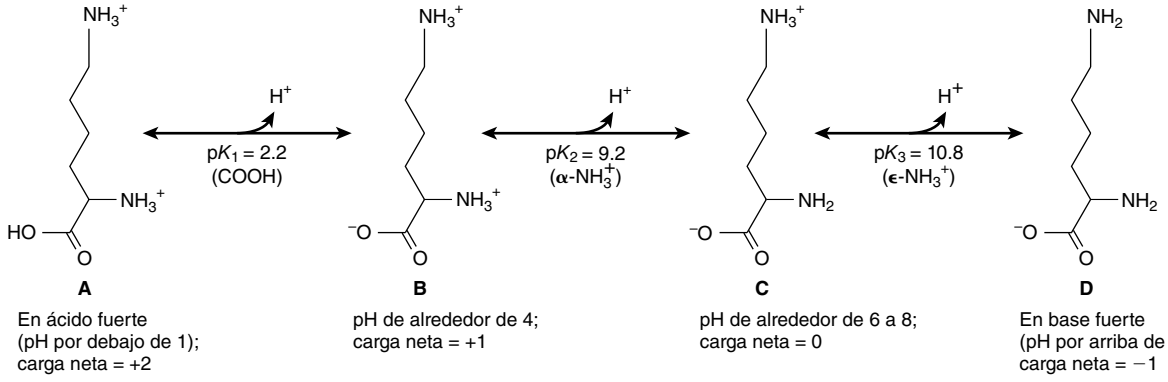


FIGURA 3-6 **Equilibrios protónicos de la lisina.**

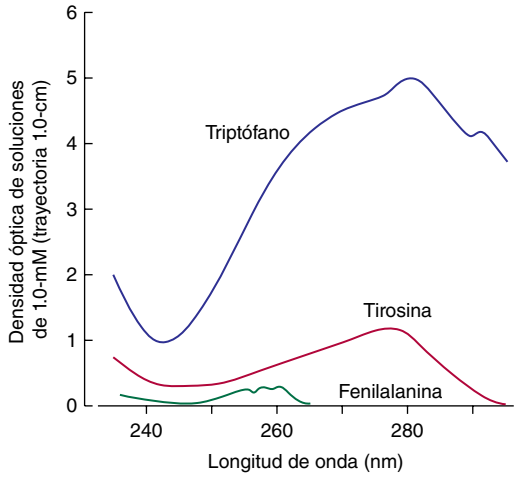


FIGURA 3-7 Espectros de absorción ultravioleta del triptófano, la tirosina y la fenilalanina.

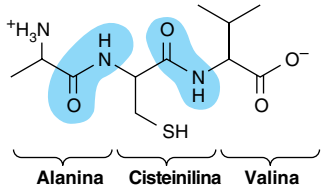
de 10 veces mayor que la fenilalanina o la tirosina, el triptófano hace la principal contribución a la capacidad de casi todas las proteínas para absorber luz en la región de 280 nm (**figura 3-7**).

LOS GRUPOS α-R DETERMINAN LAS PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS

Cada grupo funcional de un aminoácido muestra todas sus reacciones químicas características. Para los grupos ácidos carboxílicos, estas reacciones incluyen la formación de ésteres, amidas y anhídridos ácidos, para los grupos amino, acilación, amidación y esterificación, y para grupos —OH y —SH, oxidación y esterificación. Puesto que la glicina, el aminoácido más pequeño, puede caber en lugares inaccesibles a otros aminoácidos, a menudo se encuentra donde los péptidos muestran una flexión aguda. Los grupos R hidrofóbicos de la alanina, valina, leucina e isoleucina, y los grupos R aromáticos de la fenilalanina, tirosina y triptófano, típicamente ocurren principalmente en el interior de proteínas citosólicas. Los grupos R cargados de aminoácidos básicos y ácidos estabilizan las conformaciones de proteínas específicas por medio de interacciones iónicas, o puentes salinos. Estas interacciones también funcionan en sistemas de "transmisión de cargas" durante catálisis enzimática y transporte de electrones en mitocondrias que están respirando. La histidina desempeña funciones singulares en la catálisis enzimática. La pK_a de su protón imidazol permite a la histidina funcionar a pH neutro como un catalítico básico o ácido débil, sin la necesidad de cambio alguno inducido ambientalmente. El grupo alcohol primario de la serina y el grupo tioalcohol (—SH) primario de la cisteína son excelentes nucleófilos, y pueden funcionar como tales durante la catálisis enzimática. La pK_3 de la selenocisteína, 5.2, es 3 unidades más baja que la de la cisteína, de modo que, en principio, debe ser un mejor nucleófilo. No obstante, si bien el grupo alcohol secundario de la treonina es un buen nucleófilo, no se sabe que desempeñe un papel análogo en la catálisis. Los grupos —OH de la serina, tirosina y treonina, frecuentemente sirven como puntos de fijación covalente para grupos fosforilo que regulan la función de proteínas (vea capítulo 9).

La secuencia de aminoácidos determina la estructura primaria

Los aminoácidos están enlazados entre sí por enlaces peptídicos.



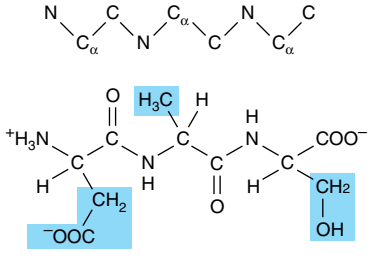
El número y el orden de los residuos de aminoácido en un polipéptido constituyen su estructura primaria. Los aminoácidos presentes en péptidos se llaman residuos aminoacilo, y se hace referencia a los mismos al reemplazar los sufijos *-ato* o *-ina* de los aminoácidos libres por *-il* (p. ej., alanil, aspartil, tirosil). A continuación, los péptidos se nombran como derivados del residuo aminoacilo *carboxilo* terminal. Por ejemplo Lis-Leu-Tir-Gln se llama lis*il*-leuc*il*-tiros*il*-glutam*ina*. La terminación *-ina* en el residuo carboxilo terminal (p. ej., glutam*ina*) indica que su grupo α-carboxilo *no* está involucrado en un enlace peptídico. Las abreviaturas de tres letras enlazadas mediante líneas rectas representan una estructura primaria inequívoca. Las líneas se omiten cuando se usan abreviaturas de una sola letra.

Glu-Ala-Lis-Gli-Tir-Ala
E A K G Y A

Los prefijos como *tri-* u *octa-* denotan péptidos con tres u ocho **residuos**, respectivamente. Por convención, los péptidos se escriben con el residuo que porta el grupo α-amino a la izquierda. Esta convención se adoptó mucho tiempo antes de que se descubriera que los péptidos son sintetizados *in vivo* empezando a partir del residuo amino terminal.

Las estructuras de péptidos son fáciles de dibujar

Para dibujar un péptido, se usa un zigzag para representar la cadena principal o esqueleto. Se añaden los principales átomos de la cadena, que ocurren en el orden repetitivo: nitrógeno α, carbono α, carbono carbonilo. Ahora se añade un átomo de hidrógeno a cada carbono α y a cada nitrógeno de péptido, y un oxígeno al carbono carbonilo. Por último, se añaden los grupos R apropiados (sombreados) a cada átomo de carbono α.



Algunos péptidos contienen aminoácidos poco comunes

En mamíferos, las hormonas peptídicas típicamente sólo contienen los α-aminoácidos especificados por 20 codones, unidos por enlaces peptídicos estándar; sin embargo, otros péptidos pueden

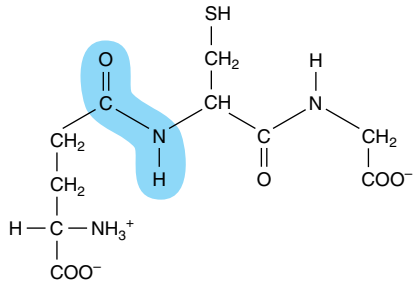


FIGURA 3-8 Glutatión (γ-glutamil-cisteinil-glicina). Note el enlace no α péptido que une la Glu a la Cis.

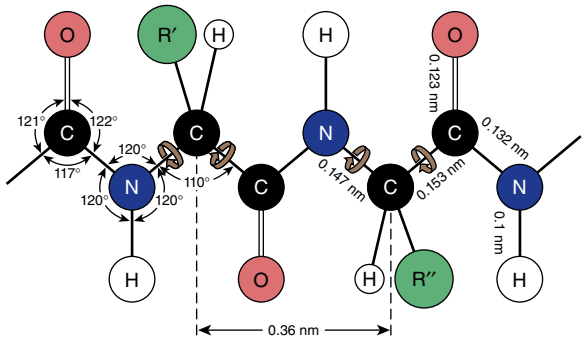
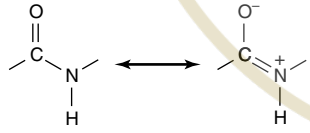


FIGURA 3-9 Dimensiones de una cadena polipeptídica extendida por completo. Los cuatro átomos del enlace peptídico son coplanares. Puede ocurrir rotación libre alrededor de los enlaces que conectan el carbono α con el nitrógeno α y con el carbono carbonilo α (flechas de color marrón). De este modo, la cadena polipeptídica extendida es una estructura semirrígida con dos tercios de los átomos del esqueleto sostenidos en una relación planar fija uno con otro. La distancia entre átomos de carbono α adyacentes es de 0.36 nm (3.6 Å). También se muestran las distancias interatómicas y los ángulos de enlace, que no son equivalentes. (Redibujado y reproducido, con autorización, de Pauling L, Corey LP, Branson HR: The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. Proc Natl Acad Sci USA 1951;37:205.)

contener aminoácidos no proteína, derivados de aminoácidos proteína, o aminoácidos enlazados mediante un enlace peptídico atípico. Por ejemplo, el glutamato amino terminal del glutatión, un tripéptido que participa en el metabolismo de xenobióticos (vea capítulo 47) y la reducción de enlaces disulfuro, está enlazado a la cisteína mediante un enlace peptídico no α (**figura 3-8**). El glutamato amino terminal de la hormona liberadora de tirotropina (TRH) es ciclado a ácido piroglutámico, y el grupo carboxilo del residuo prolil carboxilo terminal es amidado. Los aminoácidos no proteína D-fenilalanina y ornitina están presentes en los antibióticos peptídicos cíclicos tirocidina y gramicidina S, mientras que los opioides heptapeptídicos dermorfina y deltorforina en la piel de ranas arborícolas sudamericanas contienen D-tirosina y D-alanina.

El enlace peptídico tiene carácter de doble enlace parcial

Si bien las estructuras peptídicas se escriben como si un enlace único uniera los átomos carboxilo α y nitrógeno α, este enlace en realidad muestra carácter de doble enlace parcial:



Por ende, el enlace que conecta un carbono carbonilo α un nitrógeno α no puede rotar, porque esto requeriría rompimiento del doble enlace parcial. Por ende, los átomos de O, C, N y H de un enlace peptídico son coplanares. La semirrigidez impuesta del enlace peptídico tiene consecuencias importantes para la manera en la cual los péptidos y las proteínas se pliegan para generar órdenes de estructuras superiores. Las flechas de color marrón envolventes indican rotación libre alrededor de los enlaces restantes del esqueleto del polipéptido (**figura 3-9**).

Fuerzas no covalentes restringen conformaciones de péptidos

El plegado de un péptido probablemente ocurre coincidente con su biosíntesis (capítulo 37). La conformación madura, fisiológicamente activa, refleja las contribuciones colectivas de la secuencia de aminoácidos, interacciones no covalentes (p. ej., formación de enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas), y la minimización de impedimento estérico entre los residuos. Las conformaciones repetitivas comunes incluyen α-hélices y láminas β-plegadas (capítulo 5).

Los péptidos son polielectrólitos

El enlace peptídico no está cargado a cualquier pH de interés fisiológico. Por ende, la formación de péptidos a partir de aminoácidos se acompaña de una pérdida neta de una carga positiva y otra negativa por cada enlace peptídico formado. Empero, los péptidos están cargados a pH fisiológico debido a sus grupos carboxilo y amino terminales y, cuando están presentes, sus grupos R ácidos o básicos. Al igual que para los aminoácidos, la carga neta de un péptido depende del pH de su ambiente, y de los valores de pK_a de sus grupos que se están disociando.

ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS DE MATERIALES BIOLÓGICOS

El contenido de aminoácidos de proteínas por lo general se extrapola a partir de la secuencia de DNA del gen que codifica, o se analiza de manera directa mediante espectrometría de masa (capítulo 4). El material siguiente, mientras que es de interés principalmente histórico, aún puede encontrar aplicaciones, por ejemplo, en la detección de cantidades anormales de aminoácidos urinarios cuando se carece de equipo moderno. Los aminoácidos libres liberados mediante división de enlaces peptídicos en ácido clorhídrico caliente se pueden separar e identificar mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o por medio de cromatografía en papel (TLC) que emplea una fase móvil compuesta de una mezcla de componentes polares y no polares miscibles (p. ej., *n*-butanol, ácido fórmico y agua). A medida que la fase móvil se mueve hacia arriba de la hoja o hacia abajo de una columna, queda progresivamente enriquecida en

los constituyentes menos polares. Por ende, los aminoácidos no polares (p. ej., Leu, Ile) viajan más lejos, mientras que los aminoácidos polares (p. ej., Glu, Lis) viajan la menor distancia desde el origen. Los aminoácidos a continuación pueden visualizarse usando ninhidrina, que forma productos de color púrpura con casi todos los α-aminoácidos, pero un aducto amarillo con prolina e hidroxiprolina.

RESUMEN

- Tanto los D-aminoácidos como los no α-aminoácidos ocurren en la Naturaleza, pero las proteínas se sintetizan usando sólo L-α-aminoácidos. No obstante, los D-aminoácidos desempeñan funciones metabólicas, no sólo en bacterias, sino también en humanos.
- Los L-α-aminoácidos desempeñan funciones metabólicas vitales además de la síntesis de proteína. Los ejemplos incluyen la biosíntesis de urea, hem, ácidos nucleicos, y hormonas como la epinefrina y la DOPA.
- La presencia en meteoritos de cantidades traza de muchos de los aminoácidos proteína da credibilidad a la hipótesis de que los impactos de asteroides podrían haber contribuido al desarrollo de la vida en la Tierra.
- Algunos de los L-α-aminoácidos presentes en plantas y en semillas de plantas pueden tener efectos perjudiciales sobre la salud de humanos, por ejemplo, en el latirismo.
- Los grupos R de aminoácidos determinan sus funciones bioquímicas singulares. Los aminoácidos se clasifican como básicos, ácidos, aromáticos, alifáticos, o que contienen azufre, con base en la composición de sus grupos R y las propiedades de los mismos.
- El carácter de doble enlace parcial del enlace que une el carbono carbonilo y el nitrógeno de un péptido hace *coplanares* los cuatro átomos del enlace peptídico y, por ende, restringe el número de conformaciones peptídicas posibles.
- Los péptidos se nombran por el número de residuos de aminoácido presentes, y como derivados del residuo carboxilo terminal. La estructura primaria de un péptido es su secuencia de aminoácidos, empezando desde el residuo amino terminal, una dirección a la cual los péptidos en realidad se sintetizan *in vivo*.
- Todos los aminoácidos poseen al menos dos grupos funcionales débilmente ácidos, R—NH_3^+ y R—COOH. Muchos también poseen grupos funcionales débilmente ácidos adicionales, como porciones —OH fenólica, —SH, guanidino o imidazol.
- Los valores de pK_a de todos los grupos funcionales de un aminoácido o de un péptido dictan su carga neta a un pH dado. El pI, el pH isoeléctrico, es el pH al cual un aminoácido no porta carga neta y, así, no se mueve en un campo eléctrico de corriente continua.
- Los valores de pK_a de los aminoácidos libres en el mejor de los casos sólo aproximan los valores de pK_a en una proteína, que pueden diferir ampliamente debido a la influencia del entorno de una proteína.

REFERENCIAS

Bell EA: Nonprotein amino acids of plants. Significance in medicine, nutrition, and agriculture. J Agric Food Chem 2003;51:2854.

Bender, DA: *Amino Acid Metabolism*, 3rd ed. Wiley, 2012.

Burton AS, Stern JC, Elsila JE, *et al*: Understanding prebiotic chemistry through the analysis of extraterrestrial amino acids and nucleobases in meteorites. Chem Soc Rev 2012;41:5459.

Kolodkin-Gal I: D-Amino acids trigger biofilm disassembly. Science 2010;328:627.

Kreil G: D-Amino acids in animal peptides. Annu Rev Biochem 1997;66:337.

deMunck E, Muñoz-Sáez E, Miguel BG, *et al*: β-N-Methylamino-L-alanine causes neurological and pathological phenotypes mimicking Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): The first step towards an experimental model for sporadic ALS. Environ Toxicol Pharmacol 2013;36:243.

Nokihara K, Gerhardt J: Development of an improved automated gas-chromatographic chiral analysis system: application to nonnatural amino acids and natural protein hydrolysates. Chirality 2001;13:431.

Papp LV: From selenium to selenoproteins: Synthesis, identity, and their role in human health. Antioxidants Redox Signal. 2007;9:775.

Wilson NA *et al*: Aspartic acid 26 in reduced *Escherichia coli* thioredoxin has a pK_a greater than 9. Biochemistry 1995;34:8931.

CAPÍTULO 4

Proteínas: determinación de la estructura primaria

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir múltiples métodos cromatográficos comúnmente empleados para el aislamiento de proteínas a partir de materiales biológicos.
- Explicar cómo los científicos analizan la secuencia de una proteína o la estructura de la misma para extraer información acerca de su posible función fisiológica.
- Listar varias de las alteraciones postraduccionales por las que pasan las proteínas durante su lapso de vida, y la influencia de esas modificaciones sobre la función de una proteína y el destino de la misma.
- Describir la base química del método de Edman para determinar la estructura primaria.
- Dar tres razones por las cuales la espectrometría de masa (MS) ha suplantado en su mayor parte a los métodos químicos para la determinación de la estructura primaria de las proteínas, y la detección de modificaciones postraduccionales.
- Explicar por qué la MS permite detectar modificaciones postraduccionales que no se detectan mediante la secuenciación de Edman o secuenciación de DNA.
- Describir cómo la clonación de DNA y la biología molecular hicieron mucho más rápida y eficiente la determinación de las estructuras primarias de las proteínas.
- Explicar qué significa "el proteoma" y citar ejemplos de su importancia potencial final.
- Comentar las contribuciones de la genómica, los algoritmos de computadora y las bases de datos a la identificación de los marcos de lectura abierta (ORF) que codifican para una proteína dada.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas son macromoléculas complejas desde los puntos de vista físico y funcional, que desempeñan múltiples funciones de importancia crucial. Por ejemplo, una red de proteína interna, el citoesqueleto (capítulo 51), mantiene la forma y la integridad física celulares. Filamentos de actina y miosina forman la maquinaria contráctil del músculo (capítulo 51). La hemoglobina transporta oxígeno (capítulo 6), mientras que los anticuerpos circulantes defienden contra invasores extraños (capítulo 52). Las enzimas catalizan reacciones que generan energía, sintetizan biomoléculas y las degradan, replican genes y los transcriben, procesan mRNA (ácido ribonucleico mensajero), entre otras funciones (capítulo 7). Los receptores permiten a las células detectar hormonas y otros indicios ambientales, así como mostrar respuesta a los mismos (capítulos 41 y 42). Las proteínas están sujetas a cambios físicos y funcionales que reflejan el ciclo de vida de los organismos en los cuales residen. Una proteína típica "nace" en el momento de la traducción (capítulo 37), madura a través de eventos de procesamiento postraduccional, como proteólisis selectiva (capítulos 9 y 37), alterna entre estados de trabajo y de reposo por medio de la intervención de factores reguladores (capítulo 9), envejece por oxidación, desamidación, etc. (capítulo 58), y muere cuando se degrada hacia los aminoácidos que la componen (capítulo 29). Un objetivo importante de la medicina molecular es la identificación de biomarcadores como proteínas y la modificación de proteínas cuya presencia, ausencia o deficiencia se relaciona con estados fisiológicos o enfermedades específicos (**figura 4-1**).

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS ECUADOR FUNDADA EN 1620 QUITO

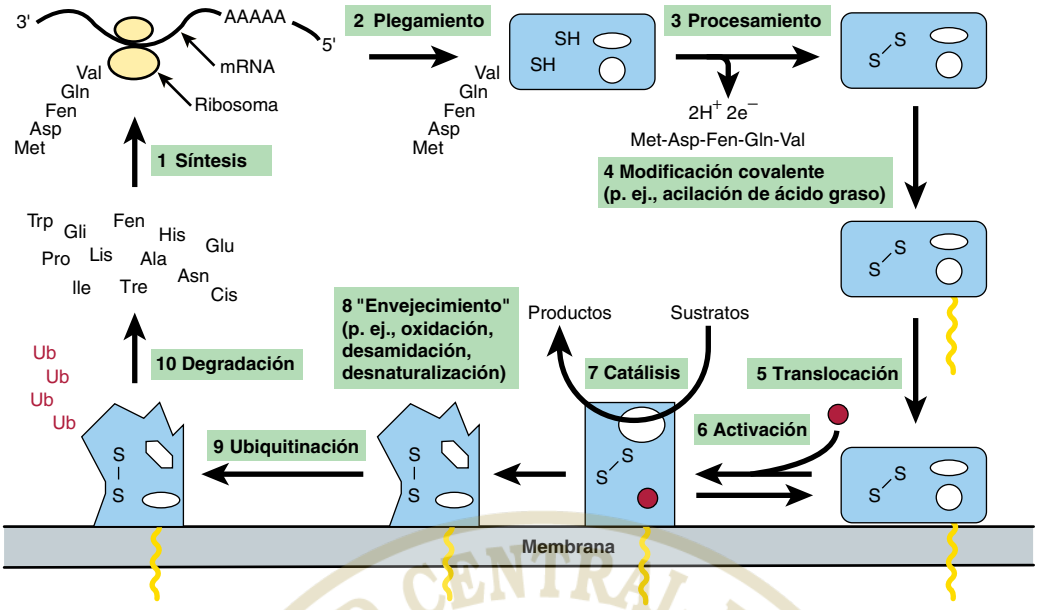


FIGURA 4-1 Diagrama del ciclo de vida de una proteína hipotética. 1) El ciclo de vida empieza con la síntesis en un ribosoma de una cadena polipeptídica, cuya estructura primaria está dictada por un mRNA. 2) Conforme procede la síntesis, el polipéptido empieza a plegarse hacia su conformación natural (representada en color azul). 3) El plegamiento puede acompañarse de eventos de procesamiento, como división proteolítica de una secuencia líder N terminal (Met-Asp-Fen-Gln-Val) o la formación de enlaces disulfuro (S—S). 4) Las modificaciones covalentes subsiguientes pueden, por ejemplo, fijar una molécula de ácido graso (representada en color amarillo) para 5) translocación de la proteína modificada hacia una membrana. 6) La unión de un efector alostérico (representado en color rojo) puede desencadenar la adopción de una conformación catalíticamente activa. 7) Con el tiempo, las proteínas quedan dañadas por ataque por sustancias químicas, desamidación o desnaturalización, y 8) pueden ser "marcadas" mediante la fijación covalente de varias moléculas de ubiquitina (*Ub*). 9) La proteína ubiquitinada después es degradada a los aminoácidos que la componen, que quedan disponibles para la síntesis de nuevas proteínas.

LAS PROTEÍNAS Y LOS PÉPTIDOS SE DEBEN PURIFICAR ANTES DE ANALIZARLOS

La proteína altamente purificada es esencial para el examen detallado de sus propiedades físicas y funcionales. Las células contienen miles de proteínas distintas, cada una en cantidades ampliamente variables. Así, el aislamiento de una proteína específica en cantidades suficientes para analizar sus propiedades plantea un formidable desafío que puede requerir la aplicación sucesiva de múltiples técnicas de purificación. La precipitación selectiva explota diferencias de la solubilidad relativa de proteínas individuales en función del pH (precipitación isoeléctrica), la polaridad (precipitación con etanol o con acetona), o la concentración de sal (separación de sustancias disueltas al añadir sulfato de amonio a la solución). Las técnicas cromatográficas separan una proteína de otra con base en la diferencia de su tamaño (cromatografía de exclusión de tamaño), la carga (cromatografía de intercambio iónico), hidrofobicidad (cromatografía de interacción hidrofóbica), o capacidad para unirse a un ligando específico (cromatografía de afinidad).

Cromatografía de columna

En la cromatografía de columna la matriz de fase estacionaria consta de cuentas pequeñas cargadas en un recipiente cilíndrico de vidrio, plástico o acero llamado una columna. Fritas permeables a líquido confinan las cuentas dentro de este espacio mientras que permiten que el líquido de fase móvil fluya o se filtre a través de la columna. Por medio de procedimientos químicos se pueden preparar derivados de las cuentas de fase estacionaria para cubrir su superficie con los grupos ácido, básico, hidrofóbico o tipo ligando requeridos para cromatografía de intercambio iónico, de interacción hidrofóbica, o de afinidad. A medida que el líquido de fase móvil sale de la columna, es recolectado de manera automática en una serie de porciones pequeñas llamadas fracciones. En la **figura 4-2** se describe la disposición básica de un sistema de cromatografía sencillo para mesa de trabajo.

HPLC, cromatografía líquida de alta presión

Para la cromatografía en columna de primera generación las matrices constaban de polímeros de oligosacárido entrelazados, largos, conformados hacia cuentas esféricas de aproximadamente una décima de milímetro de diámetro. Por desgracia, su tamaño relativamente grande perturbaba el flujo de fase móvil y limitaba el área de superficie disponible. La reducción del tamaño de las partículas ofreció el potencial de aumentar mucho la resolución. Sin embargo, la resistencia creada por la matriz más estrechamente empacada requirió el uso de presiones muy altas que aplastarían las cuentas de polisacárido blandas y esponjosas y materiales similares, por ejemplo, polisacáridos y acrilamida. Finalmente, se crearon métodos para manufacturar partículas de silicón del tamaño y la forma necesarios para preparar derivados de su superficie con diversos grupos funcionales, y para empacarlas en columnas de acero inoxidable capaces de soportar presiones de varios miles de libras por pulgada (psi). Debido a su mayor poder de resolución,

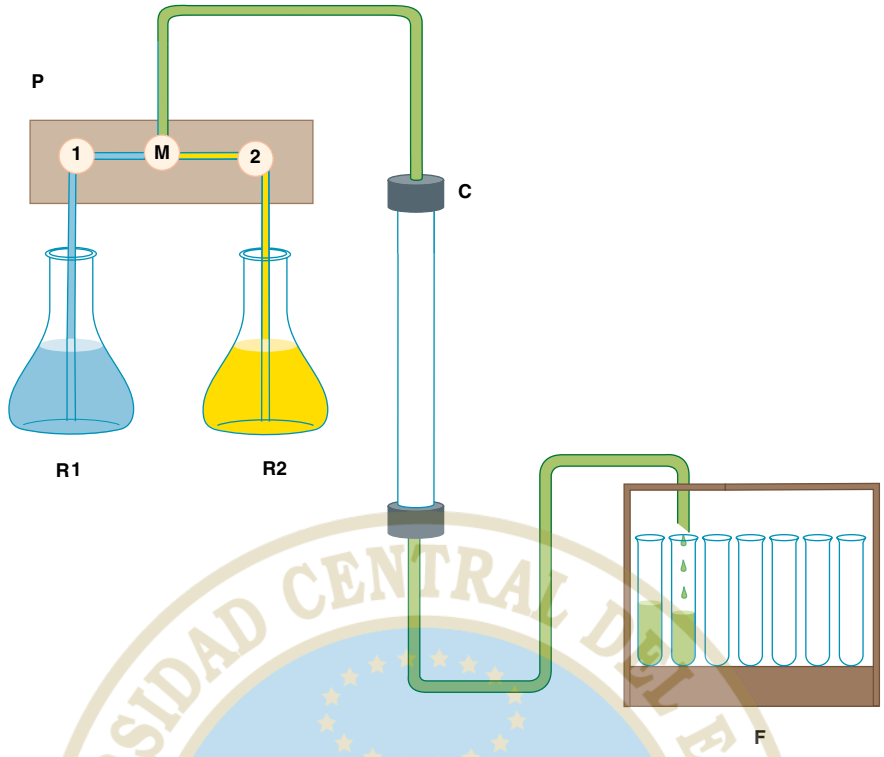


FIGURA 4-2 Componentes de un aparato de cromatografía líquida típico. R1 y R2: reservorios de líquido de fase móvil. P: sistema de bombeo programable que contiene dos bombas, 1 y 2, y una cámara de mezcla, M. El sistema puede ajustarse para que bombee líquido desde sólo un reservorio, para que cambie de reservorios en un punto predeterminado a fin de generar un gradiente de paso, o para que mezcle líquidos de los dos reservorios en proporciones que varían con el tiempo para crear un gradiente continuo. C: columna de vidrio, metal o plástico que contiene la fase estacionaria. F: colector de fracción para recolectar porciones, llamadas fracciones, de líquido de elución en tubos de ensayo separados.

los sistemas de cromatografía líquida de alta presión han desplazado en su mayor parte las columnas de vidrio alguna vez familiares en el laboratorio de purificación de proteína.

Cromatografía de exclusión de tamaño

En la cromatografía de exclusión de tamaño —o filtración en gel— se separan las proteínas con base en su **radio de Stokes**, el radio de la esfera que ocupan a medida que entran en solución. El radio de Stokes es una función de la masa y la forma moleculares. Una proteína alargada que cae ocupa un mayor volumen que una proteína esférica de la misma masa. En la cromatografía de exclusión de tamaño se emplean cuentas porosas (**figura 4-3**). Los poros son análogos a irregularidades en una ribera de río. A medida que los objetos se mueven torrente abajo, los que entran en una irregularidad se retrasan hasta que regresan a la corriente principal. De modo similar, las proteínas con radios de Stokes demasiado grandes como para entrar en los poros (proteínas excluidas) permanecen en la fase móvil que está fluyendo y salen *antes* que las que pueden entrar en los poros (proteínas incluidas). Así, las proteínas surgen a partir de una columna de filtración en gel en orden descendente de sus radios de Stokes.

Cromatografía de intercambio iónico

En la cromatografía de intercambio iónico, las proteínas interactúan con la fase estacionaria mediante interacciones de carga-carga. Las proteínas con una carga positiva neta a un pH dado se adherirán estrechamente a cuentas con grupos funcionales que tienen carga negativa, como carboxilatos o sulfatos (intercambiadores catiónicos). De modo similar, las proteínas con una carga negativa neta se adhieren a cuentas que tienen grupos funcionales con carga positiva, típicamente aminas terciarias o cuaternarias (intercambiadores aniónicos). Las proteínas no adherentes fluyen a través de la matriz y se eliminan por medio de lavado. A continuación, las proteínas unidas son desplazadas de manera selectiva al aumentar gradualmente la fuerza iónica de la fase móvil, lo que debilita interacciones entre una carga y otra. Hay elusión de proteínas en orden inverso de la fuerza de sus interacciones con la fase estacionaria.

Cromatografía de interacción hidrofóbica

Separa a proteínas con base en su tendencia a asociarse con una matriz de fase estacionaria cubierta con grupos hidrofóbicos (p. ej., fenil Sepharose, octil Sephadex). Las proteínas que tienen superficies hidrofóbicas expuestas se adhieren a la matriz por medio de interacciones hidrofóbicas que se aumentan mediante una fase móvil de fuerza iónica alta. Las proteínas no adherentes primero se eliminan mediante lavado. A continuación se disminuye la polaridad de la fase móvil al reducir de manera gradual la concentración de sal. Si la interacción entre proteína y fase estacionaria es en particular fuerte, puede añadirse etanol o glicerol a la fase móvil para disminuir su polaridad y debilitar más las interacciones hidrofóbicas.

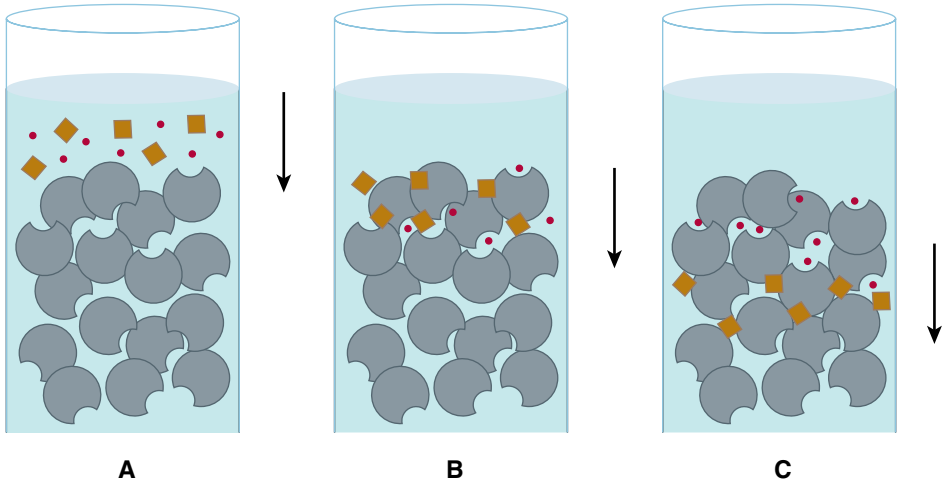


FIGURA 4-3 Cromatografía de exclusión de tamaño A: Una mezcla de moléculas grandes (en color café) y moléculas pequeñas (rojo) se aplica en la parte superior de una columna de filtración de gel. B: En el momento de entrar a la columna, las moléculas pequeñas entran a poros en la matriz de fase estacionaria (gris) a partir de la cual se excluyen las moléculas grandes. C: Conforme la fase móvil (azul) fluye por la columna, las moléculas grandes excluidas fluyen dentro de la misma, mientras que las moléculas pequeñas, que están protegidas temporalmente del flujo cuando están dentro de los poros, se rezagan cada vez más.

Cromatografía de afinidad

La cromatografía de afinidad explota la alta selectividad de casi todas las proteínas para sus ligandos. Las enzimas pueden purificarse mediante cromatografía de afinidad usando sustratos, productos, coenzimas o inhibidores, inmovilizados. En teoría, sólo las proteínas que interactúan con el ligando inmovilizado se adhieren. A continuación hay elusión de proteínas unidas sea mediante competencia con ligando soluble libre o, de manera menos selectiva, al alterar interacciones entre proteína y ligando al usar urea, clorhidrato de guanidina, pH levemente ácido, o concentraciones altas de sal. Las matrices de fase estacionaria disponibles comercialmente contienen ligandos como análogos de NAD^+ o ATP. La purificación de proteínas expresadas de manera recombinante suele facilitarse al modificar el gen clonado para añadir un nuevo dominio de fusión designado para interactuar con un ligando unido a matriz específico (capítulo 7).

La pureza de las proteínas se evalúa mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE)

El método más ampliamente usado para determinar la pureza de una proteína es la SDS-PAGE, electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) en presencia del detergente aniónico dodecil sulfato de sodio (SDS). La electroforesis separa biomoléculas cargadas con base en los índices a los cuales migran en un campo eléctrico aplicado; en cuanto a la SDS-PAGE, la acrilamida se polimeriza y se entrecruza para formar una matriz porosa. La SDS se une a proteínas a una proporción de una molécula de SDS por cada dos enlaces peptídicos, lo que causa que el polipéptido se desdoble o se desnaturalice. Cuando es utilizada en forma conjunta con 2-mercaptoetanol o ditiotreitol para reducir enlaces disulfuro y romperlos (**figura 4-4**), la SDS-PAGE separa los polipéptidos componentes de proteínas multiméricas. El gran número de moléculas de SDS aniónicas, cada una de las cuales porta una carga de −1, abruma las contribuciones de carga de los grupos funcionales aminoácidos endógenos a los polipéptidos. Dado que la proporción entre carga y masa de cada complejo de SDS-polipéptido es más o menos igual, la resistencia física que cada péptido encuentra a medida que se mueve por la matriz de acrilamida determina el índice de migración. Dado que los complejos grandes encuentran mayor resistencia, los polipéptidos se separan con base en su masa molecular relativa (M_r, también conocida como peso molecular). Es factible visualizar polipéptidos individuales atrapados en el gel de acrilamida

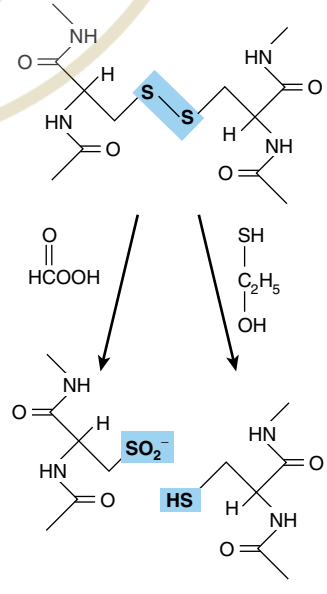


FIGURA 4-4 La división oxidativa de cadenas polipeptídicas adyacentes unidas por medio de enlaces disulfuro (resaltados en azul) al efectuar división en ácido (izquierda) o reductiva mediante β-mercaptoetanol (derecha) forma dos péptidos que contienen residuos ácido cisteico o residuos cisteinilo, respectivamente.

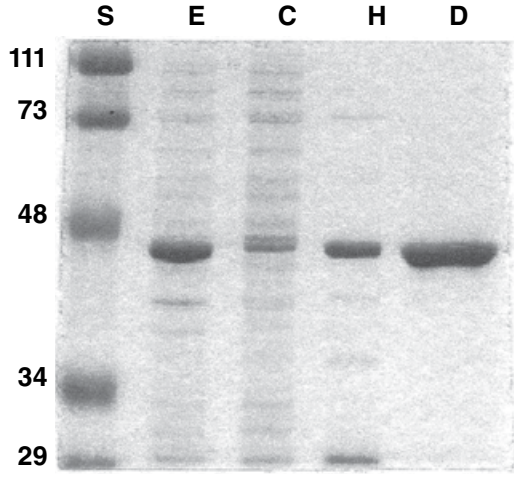


FIGURA 4-5 Uso de SDS-PAGE para observar la purificación sucesiva de una proteína recombinante. El gel se coloreó con azul de Coomassie. Se muestran estándares de proteína (carril S) del M_r indicado, en kDa, extracto celular bruto (E), citosol (C), líquido sobrenadante a alta velocidad (H [por high-speed]), y la fracción de DEAE-sefarosa (D). La proteína recombinante tiene una masa de alrededor de 45 kDa.

después de removerlos del campo eléctrico, tiñéndolos con colorantes como azul de Coomassie (**figura 4-5**).

Enfoque isoeléctrico (IEF)

Se usan amortiguadores iónicos llamados anfolitos y un campo eléctrico aplicado para generar un gradiente de pH dentro de una matriz de poliacrilamida. Las proteínas aplicadas migran hasta que llegan a la región de la matriz donde el pH coincide con su punto isoeléctrico (pI), el pH al cual la carga neta de una molécula es cero. El IEF se usa de manera conjunta con SDS-PAGE para la electroforesis bidimensional, que separa polipéptidos con base en el pI en una dimensión y con base en la M_r en la segunda (**figura 4-6**). La electroforesis bidimensional resulta idónea para separar los componentes de mezclas de proteínas complejas.

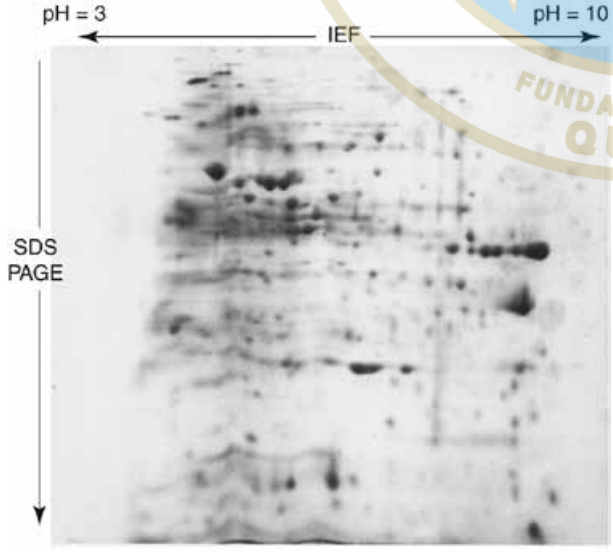


FIGURA 4-6 IEF-SDS-PAGE bidimensionales. El gel se tiñó con azul de Coomassie. Un extracto bacteriano bruto fue sometido primero a enfoque isoeléctrico (IEF) en un gradiente de pH de 3 a 10. A continuación el gel con IEF fue colocado en forma horizontal en la parte superior de un gel de SDS, y después las proteínas se resolvieron más mediante SDS-PAGE. Note la resolución muy mejorada de distintos polipéptidos en comparación con gel de SDS-PAGE ordinario (fig. 4-5).

SANGER FUE EL PRIMERO EN DETERMINAR LA SECUENCIA DE UN POLIPÉPTIDO

La insulina madura consta de la cadena A de 21 residuos y la cadena B de 30 residuos unidas mediante enlaces disulfuro. Frederick Sanger redujo los enlaces disulfuro (figura 4-4), separó las cadenas A y B, y dividió cada cadena hacia péptidos de menor tamaño usando tripsina, quimotripsina y pepsina. Los péptidos resultantes después fueron aislados y tratados con ácido para hidrolizar una porción de los enlaces peptídicos y generar péptidos con apenas 2 o 3 aminoácidos. Cada péptido se hizo reaccionar con 1-fluoro-2,4-dinitrobenceno (reactivo de Sanger), que deriva los grupos α-amino expuestos de los residuos amino terminal. Después fue determinado el contenido de aminoácidos de cada péptido e identificado el aminoácido amino terminal. El grupo ε-amino de la lisina también reacciona con el reactivo de Sanger, pero dado que una lisina amino terminal reacciona con 2 mol de dicho reactivo, es fácil distinguirla de una lisina en el interior de un péptido. Al trabajar desde dipéptidos y tripéptidos en adelante por fragmentos de tamaño progresivamente mayor, Sanger logró reconstruir la secuencia completa de la insulina, logro por el cual recibió un premio Nobel en 1958. Sanger, quien recibió un segundo premio Nobel por su trabajo en el desarrollo de las técnicas de secuenciación de DNA, murió en 2013 a la edad de 95 años.

LA REACCIÓN DE EDMAN PERMITE SECUENCIAR PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS

Pehr Edman introdujo el fenilisotiocianato (reactivo de Edman) para marcar de manera selectiva el residuo amino terminal de un péptido. En contraste con el reactivo de Sanger, el derivado feniltiohidantoína (PTH) puede eliminarse en condiciones leves para generar un nuevo residuo amino terminal (**figura 4-7**). Por consiguiente, pueden usarse rondas sucesivas de obtención de derivados con reactivo de Edman para secuenciar muchos residuos de una muestra única de péptido. Aun así, la determinación de la secuencia completa de una proteína mediante métodos químicos persiste como un proceso que consume tiempo y es laborioso.

Las propiedades químicas heterogéneas de los aminoácidos significaron que cada paso en el procedimiento representó un término medio entre la eficiencia para cualquier aminoácido o grupo de aminoácidos particular, y la flexibilidad necesaria para adaptarse a los 20. En consecuencia, cada paso en el proceso opera a eficiencia de menos de 100%, lo cual lleva a la acumulación de fragmentos polipeptídicos con *N* terminales variables. Finalmente, se hace imposible distinguir entre el aminoácido PTH correcto para esa posición en el péptido, de los contami-

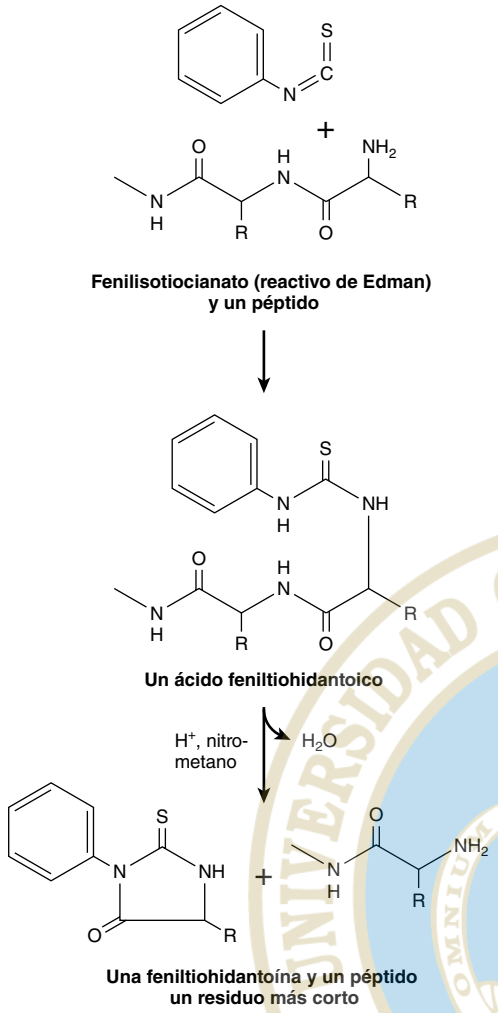


FIGURA 4-7 La reacción de Edman. El fenilisotiocianato produce derivados del residuo amino terminal de un péptido como un ácido feniltiohidantoico. El tratamiento con ácido en un solvente no hidroxílico libera una feniltiohidantoína, que posteriormente es identificada por su movilidad cromatográfica, y un péptido un residuo más corto. A continuación se repite el proceso.

nantes. Como resultado, la longitud de lectura para secuenciación de Edman varía desde 5 hasta 30 residuos de aminoácidos, dependiendo de la cantidad del péptido y la pureza del mismo.

A fin de determinar la secuencia completa de un polipéptido de varios cientos de residuos de longitud, una proteína primero debe dividirse en péptidos de menor tamaño, usando una proteasa o un reactivo como bromuro de cianógeno. Después de purificación mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de fase reversa, estos péptidos son analizados mediante secuenciación de Edman. Para montar estas secuencias peptídicas cortas a fin de resolver la secuencia completa del polipéptido intacto, es necesario analizar péptidos cuya secuencia se superpone. Esto se logra al generar múltiples juegos de péptidos usando más de un método de división. Las grandes cantidades de proteína purificada que se requieren para probar múltiples condiciones de fragmentación de proteína y de purificación de péptido constituyen la segunda desventaja importante de las técnicas químicas directas de secuenciación de proteína.

LA BIOLOGÍA MOLECULAR REVOLUCIONÓ LA DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA PRIMARIA

Las reacciones en las que se obtienen derivados de aminoácidos PTH, y se dividen estos últimos desde el extremo amino terminal de un péptido, de manera secuencial, típicamente se realizan en un secuenciador automatizado. En contraste, la secuenciación de DNA es tanto mucho más rápida como más económica. Las técnicas recombinantes permiten a los investigadores manufacturar un aporte casi infinito de DNA usando la muestra original como plantilla (capítulo 39). Los métodos de secuenciación de DNA, cuyas propiedades químicas también fueron desarrolladas por Sanger, permiten de manera sistemática determinar las secuencias de polidesoxirribonucleótidos de algunos cientos de residuos de longitud en un análisis único, mientras que los secuenciadores automatizados pueden "leer" secuencias de varios miles de nucleótidos de longitud. El conocimiento del código genético permite determinar la secuencia del polipéptido codificado simplemente al traducir la secuencia de oligonucleótidos de su gen. Por el contrario, los primeros biólogos moleculares diseñaron sondas de oligonucleótido complementarias para identificar la clona de DNA que contiene el gen de interés al revertir este proceso y usar como plantilla un segmento de secuencia de aminoácidos determinada químicamente. De este modo, el advenimiento de la clonación de DNA introdujo el uso difundido de un método híbrido en el cual se empleó la química de Edman para secuenciar una porción pequeña de la proteína, y después explotar esta información para determinar la secuencia restante por medio de clonación de DNA y secuenciación del mismo.

LA GENÓMICA PERMITE IDENTIFICAR PROTEÍNAS A PARTIR DE CANTIDADES PEQUEÑAS DE DATOS DE SECUENCIA

En la actualidad el número de organismos para los cuales se ha identificado la secuencia de DNA completa de su genoma y puesto a disposición de la comunidad científica asciende a cientos (capítulo 10). Estas secuencias abarcan casi todos los "organismos modelo" comúnmente empleados en laboratorios de investigación biomédica: *Homo sapiens,* ratón, rata, *Escherichia coli, Drosophila melanogaster, Caenorhabiditis elegans,* levadura, etc., así como muchos organismos patógenos. Mientras tanto, en todo el mundo, disposiciones de secuenciadores de DNA automatizados siguen generando datos sobre la secuencia del genoma con rapidez y economía aún mayores. Así, para la mayoría de los científicos investigadores la secuencia de la o las proteínas con las cuales están trabajando ya se ha determinado, y se podrá acceder a ella en una base de datos como GenBank (capítulo 10). Lo único que el científico necesita es adquirir suficiente información sobre la secuencia de aminoácidos a partir de la proteína; a veces bastan 5 o 6 residuos consecutivos para hacer una identificación inequívoca. Si bien la información sobre la secuencia de aminoácidos requerida puede obtenerse usando la técnica de Edman, en la actualidad la espectrometría de masa (MS) ha surgido como el mejor método para la identificación de proteína.

CUADRO 4-1 Incrementos de masas originados por modificaciones postraduccionales comunes.

Modificación	Incremento de masa (Da)
Fosforilación	80
Hidroxilación	16
Metilación	14
Acetilación	42
Miristilación	210
Palmitoilación	238
Glucosilación	162

LA ESPECTROMETRÍA DE MASA PERMITE DETECTAR MODIFICACIONES COVALENTES

La sensibilidad, rapidez y versatilidad superiores de la MS han reemplazado a la técnica de Edman como el principal método para determinar las secuencias de péptidos y proteínas. La MS es significativamente más sensible y tolerante de variaciones de la calidad de la muestra. Más aún, puesto que la masa y la carga son propiedades comunes de una amplia gama de biomoléculas, la MS puede usarse para analizar metabolitos, carbohidratos y modificaciones postraduccionales, como fosforilación o hidroxilación que añaden incrementos de masa fácilmente identificados a una proteína (**cuadro 4-1**). Estas modificaciones son difíciles de detectar usando la técnica de Edman y son indetectables en la secuencia de aminoácidos derivada de DNA.

LOS ESPECTRÓMETROS DE MASA VIENEN EN VARIAS CONFIGURACIONES

En un espectrómetro de masa sencillo, de cuadrupolo único, se coloca una muestra bajo vacío, y se permite que se vaporice en presencia de un donador de protón para impartir una carga positiva. A continuación, un campo eléctrico propulsa los cationes hacia un tubo de vuelo curvo donde encuentran un campo magnético, que los desvía a un ángulo recto respecto a su dirección de vuelo original (**figura 4-8**). La corriente que da energía al electroimán se aumenta de manera gradual hasta que la vía de cada ion se desvía lo suficiente como para que golpee un detector montado en el extremo del tubo de vuelo. **Para iones de carga neta idéntica, la fuerza requerida para desviar su trayectoria al mismo grado es proporcional a su masa.**

El tubo de vuelo para un espectrómetro de masa de tiempo de vuelo (TOF) es lineal. Después de la vaporización de la muestra en presencia de un donador de protón, se aplica brevemente un campo eléctrico para acelerar los iones hacia el detector en el extremo del tubo de vuelo. **Para moléculas de carga idéntica, la velocidad a la cual son aceleradas —y, por ende, el tiempo requerido para que lleguen al detector— es inversamente proporcional a su masa.**

Los espectrómetros de masa de cuadrupolo por lo general se usan para determinar las masas de moléculas de 4 000 Da o menos, mientras que los espectrómetros de masa de tiempo de vuelo se usan para determinar las masas grandes de proteínas complejas. Diversas combinaciones de cuadrupolos múltiples, o el reflejo de iones de regreso por el tubo de vuelo lineal de un espectrómetro de masa de TOF, se usan para crear instrumentos más sofisticados.

Los péptidos pueden volatilizarse para análisis mediante ionización de electroespray o desorción láser asistida por matriz

El análisis de péptidos y proteínas mediante espectrometría de masa inicialmente estuvo obstaculizado por dificultades para volatilizar moléculas orgánicas grandes. Si bien las moléculas orgánicas pequeñas podían vaporizarse fácilmente mediante calentamiento en un vacío (**figura 4-9**), las proteínas, los oligonucleótidos, etc., quedaban destruidos en estas condiciones. Sólo cuando se idearon técnicas fiables para dispersar péptidos, proteínas y otras biomoléculas grandes hacia la fase de vapor, fue posible aplicar la MS para su análisis estructural y determinación de secuencia. La dispersión hacia la fase de vapor se logra mediante tres métodos: **ionización de electroespray**, **desorción e ionización láser asistida por matriz (MALDI)** y **bombardeo atómico rápido (FAB)**. En la ionización de electroespray, las moléculas que se van a analizar se disuelven en un solvente volátil y se introducen en la cámara de muestra en un chorro pequeño a través de un capilar (figura 4-9). A medida que la gotita de líquido surge hacia la cámara de muestra, el solvente se dispersa con rapidez y deja la macromolécula suspendida en la fase gaseosa. La sonda cargada sirve para ionizar la muestra. A menudo se utiliza la ionización de electroespray para analizar péptidos y proteínas conforme muestran elusión desde una HPLC u otra columna de cromatografía ya disuelta en un solvente volátil. En la MALDI, la muestra se mezcla con una matriz líquida que contiene un colorante que absorbe luz y una fuente de protones. En la cámara de muestra, la mezcla es excitada usando un láser, lo que hace que la matriz circundante se disperse hacia la fase de vapor con rapidez tal que evite el calentamiento de péptidos o proteínas embebidos (figura 4-9). En el bombardeo atómico rápido, grandes macromoléculas dispersadas en glicerol u otra matriz protónica son bombardeadas por una oleada de átomos neutrales, por ejemplo, xenón, que han sido acelerados a alta velocidad. La ionización "suave" mediante FAB a menudo es aplicada para voltilizar grandes macromoléculas intactas.

Los péptidos dentro del espectrómetro de masa se pueden fragmentar hacia unidades de menor tamaño mediante choques con átomos de helio o argón neutros (disociación inducida por colisión), y es posible determinar las masas de los fragmentos individuales. Puesto que los enlaces peptídicos son mucho más lábiles que los enlaces carbono-carbono, los fragmentos más abundantes diferirán uno de otro por unidades equivalentes a uno o dos aminoácidos. Dado que —con las excepciones de 1) leucina e isoleucina, y 2) glutamina y lisina— la masa molecular de cada aminoácido es singular, la secuencia del péptido puede reconstruirse a partir de las masas de sus fragmentos.

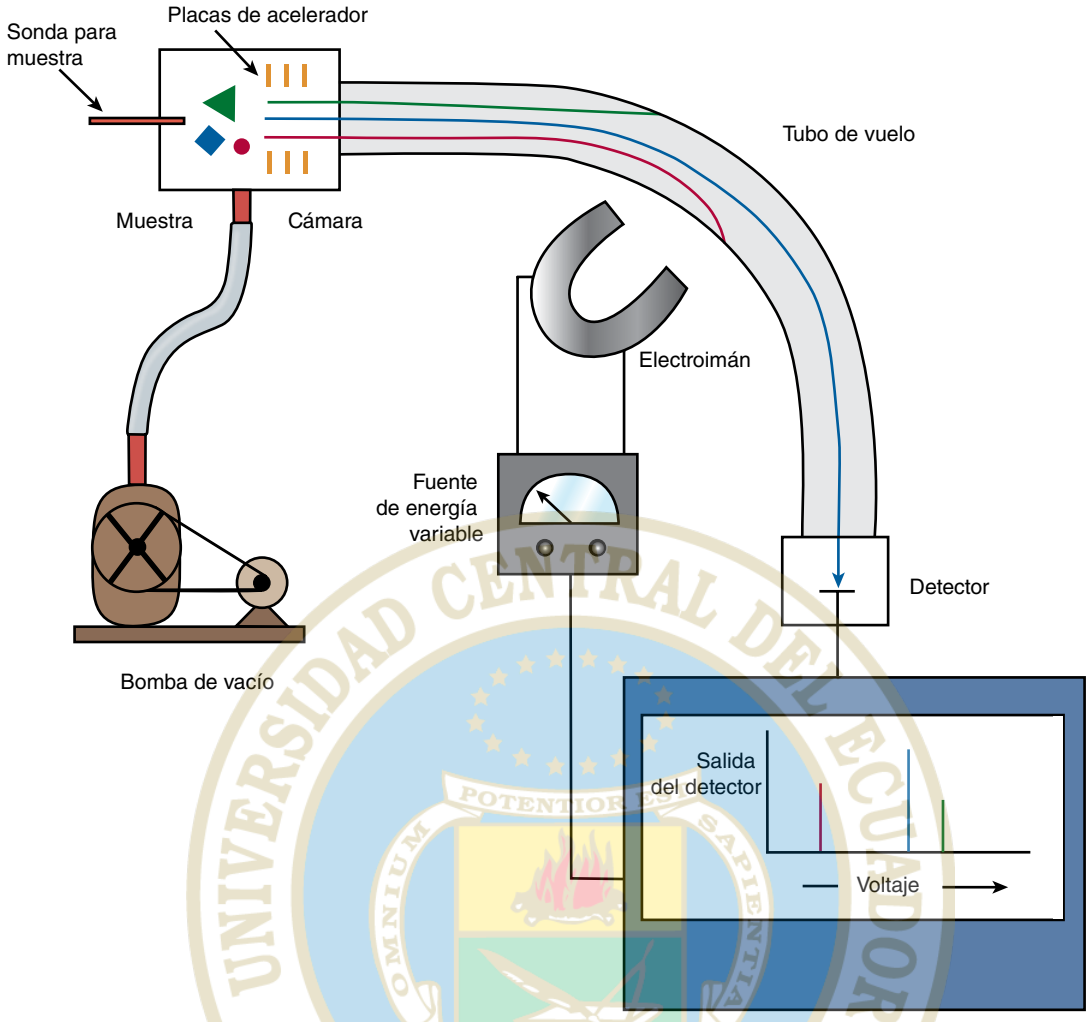


FIGURA 4-8 **Componentes básicos de un espectrómetro de masa sencillo.** Una mezcla de moléculas, representada por un círculo rojo, un triángulo verde y un rombo azul, es vaporizada en un estado ionizado en la cámara de muestra. A continuación, estas moléculas son aceleradas por el tubo de vuelo mediante un potencial eléctrico aplicado a la rejilla aceleradora (amarillo). Un electroimán de fuerza de campo ajustable aplica un campo magnético que desvía el vuelo de los iones individuales hasta que golpean el detector. Mientras mayor es la masa del ion, más alto es el campo magnético requerido para enfocarlo sobre el detector.

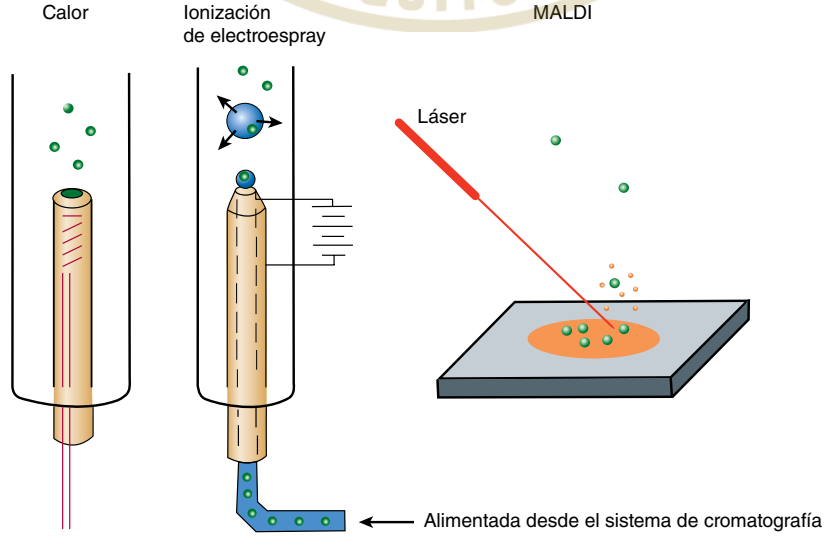


FIGURA 4-9 **Tres métodos comunes para vaporizar moléculas en la cámara de muestra de un espectrómetro de masa.**

Espectrometría de masas en tándem

Aquí se emplea el equivalente de dos espectrómetros de masas enlazados en serie, y ahora permite analizar mezclas de péptidos complejas, sin purificación previa. Por esta razón, tales instrumentos en tándem a menudo se refieren como **MS-MS** o **MS²**. El primer espectrómetro separa péptidos individuales con base en sus diferencias de masa. Al ajustar la fuerza del campo del primer imán, un péptido único puede dirigirse hacia el segundo espectrómetro de masas, donde se generan fragmentos y se determinan sus masas. De manera alternativa, pueden mantenerse en una **trampa iónica** colocada entre los dos cuadrupolos, y pasarse de manera selectiva a los segundos cuadrupolos en lugar de perderse cuando los primeros cuadrupolos son ajustados para que seleccionen iones de una masa diferente.

La espectrometría de masas en tándem puede usarse para efectuar pruebas en muestras de sangre provenientes de recién nacidos para detectar la presencia y las concentraciones de aminoácidos, ácidos grasos y otros metabolitos. Las anormalidades de las concentraciones de metabolitos pueden servir como indicadores diagnósticos para diversos trastornos genéticos, como fenilcetonuria, encefalopatía con acidemia etilmalónica y acidemia glutárica tipo 1.

PROTEÓMICA Y EL PROTEOMA

El objetivo de la proteómica es identificar la totalidad de proteínas elaboradas por una célula en diversas condiciones

Si bien se conoce la secuencia del genoma humano, el cuadro proporcionado por la genómica sola es tanto estático como incompleto. A medida que los genes se activan y desactivan, se sintetizan proteínas en tipos de células particulares en momentos específicos del crecimiento o la diferenciación, así como en respuesta a estímulos externos. Las células musculares expresan proteínas no expresadas por células neurales, y el tipo de subunidades presente en el tetrámero de hemoglobina pasa por cambios antes y después del parto. Muchas proteínas pasan por modificaciones postraduccionales durante la maduración hacia formas competentes desde el punto de vista funcional, o como un medio de regular sus propiedades. Por ende, el conocimiento del genoma humano sólo representa el inicio de la tarea de describir organismos vivos en detalle molecular, así como entender la dinámica de procesos como crecimiento, envejecimiento y enfermedad. Dado que el cuerpo humano contiene miles de tipos de células, cada una de las cuales contiene miles de proteínas, el **proteoma** —el conjunto de todas las proteínas expresadas por una célula individual en un momento particular— representa un blanco en movimiento de formidables dimensiones.

La determinación simultánea de cientos de proteínas es técnicamente desafiante

Un objetivo de la proteómica es la identificación de proteínas cuya magnitud de expresión se correlaciona con eventos de importancia médica. Se presume que las proteínas cuya aparición o desaparición se asocia con un estado fisiológico o una enfermedad específico están enlazadas, de manera sea directa o indirecta, a sus causas y mecanismos originales. Si bien los investigadores han desarrollado múltiples herramientas para detectar y evaluar la presencia y las cantidades de proteínas seleccionadas usando anticuerpos, valoraciones de enzimas, etc., su especificidad las hizo poco idóneas para determinar simultáneamente cientos o miles de proteínas en una muestra biológica típica. Las valoraciones de la concentración de proteína, por ejemplo, mediante el método de Lowry o de Bradford, y tinciones como azul Coomassie, si bien son universales, no proporcionan información respecto a la identidad de un polipéptido dado.

En la proteómica de primera generación se empleaba SDS-PAGE o electroforesis bidimensional para resolver una proteína de otra en una muestra biológica, lo cual iba seguido por determinación de la secuencia de aminoácidos de su amino terminal mediante el método de Edman. Las identidades se determinaban al buscar secuencias de polipéptidos disponibles, para proteínas que contenían una secuencia N-terminal que coincidía, y se predecía que poseían un M_r y, para geles 2D, pI, similares.

Estos esfuerzos tempranos quedaron restringidos por el número limitado de secuencias de polipéptidos disponible y las dificultades para aislar polipéptidos en cantidades suficientes para el análisis de Edman a partir de los geles. Los intentos por aumentar el poder de resolución y el rendimiento de muestra al aumentar el tamaño de los geles sólo fueron marginalmente exitosos. Finalmente, el desarrollo de técnicas de espectrometría de masa proporcionó un medio para la determinación de la secuencia de proteínas, cuya sensibilidad fue comparable a la de los métodos de separación electroforética.

El conocimiento de la secuencia del genoma del organismo en cuestión facilitó mucho la identificación al proporcionar un conjunto integral de secuencias de polipéptidos codificadas por DNA. También proporcionó datos sobre la secuencia de nucleótidos a partir de la cual construir arreglos de genes, a veces llamados chips de DNA, que contienen cientos de sondas de oligonucleótido distintas. Estos chips podían usarse entonces para detectar la presencia de mRNA que contenían secuencias de nucleótidos complementarias. Si bien los cambios en la expresión del mRNA que codifica para una proteína no necesariamente reflejan cambios comparables de la concentración de la proteína correspondiente, los chips de genes fueron tanto menos demandantes desde el punto de vista técnico como más sensibles que los métodos proteómicos de primera generación, en particular respecto a proteínas poco abundantes.

La proteómica de segunda generación acopló técnicas cromatográficas de nanoescala recién desarrolladas con la espectrometría de masa. Las proteínas en una muestra biológica primero se tratan con una proteasa para hidrolizarlas hacia péptidos más pequeños que a continuación quedan sujetos a cromatografía de fase revertida, de intercambio iónico, o de exclusión de tamaño, para distribuir el vasto número de péptidos hacia subgrupos más pequeños que se prestan más a análisis. Estos subgrupos se analizaron al inyectar el efluente de la columna directamente en un cuadripolo doble o espectrómetro de masa de tiempo de vuelo. En la tecnología de identificación de proteína multidimensional (MudPIT) se emplean rondas de cromatografía para resolver los péptidos producidos a partir de la digestión de una muestra biológica compleja hacia varias fracciones más simples que pueden analizarse por separado mediante MS.

En la actualidad, la suspensión de mezclas de péptidos complejas dentro del espectrómetro de masa en sí, y la exportación subsiguiente de subgrupos pequeños para el análisis final con el uso de trampas de iones a menudo permite que incluso mezclas complejas se analicen directamente por medio de MS sin fraccionamiento cromatográfico previo. También continúan los esfuerzos por refinar los métodos para el análisis de la expresión de mRNA y de proteína en células individuales.

La bioinformática ayuda a la identificación de funciones de proteínas

En la actualidad se desconocen las funciones de una proporción grande de las proteínas codificadas por el genoma humano. Continúan los esfuerzos por desarrollar arreglos o chips de proteína para probar directamente las funciones potenciales de proteínas en una escala en masa. Sin embargo, si bien las funciones de algunas proteínas son relativamente fáciles de valorar, como la actividad de proteasa o de esterasa, otras son mucho menos manejables. La recolección de datos por medio de bioinformática permite a los investigadores comparar secuencias de aminoácidos de proteínas desconocidas con las de aquellas cuyas funciones se han determinado. Esto proporciona un medio de descubrir indicios respecto a sus propiedades, funciones fisiológicas y mecanismos de acción de proteínas, potenciales. Los algoritmos explotan la tendencia de la Naturaleza a emplear variaciones de un tema estructural para desempeñar funciones similares en varias proteínas (p. ej., el plegamiento de unión a nucleótidos, de Grossman, para unir NAD[P]H; secuencias de direccionamiento nuclear, y manos EF para unir Ca2+). Estos dominios por lo general se detectan en la estructura primaria por conservación de aminoácidos particulares en posiciones clave. De este modo, la información acerca de las propiedades y la función fisiológica de una proteína recién descubierta pueden inferirse al comparar su estructura primaria con la de proteínas conocidas.

RESUMEN

- Los polímeros largos de aminoácidos, o polipéptidos, constituyen la unidad estructural básica de las proteínas, y la estructura de una proteína proporciona información acerca de cómo desempeña sus funciones.
- Las proteínas pasan por alteraciones postraduccionales durante su vida, que influyen sobre su función y determinan su destino.
- Al generar un nuevo amino terminal, el reactivo de Edman permitió la determinación de segmentos largos de secuencia de aminoácidos.
- Los geles de poliacrilamida proporcionan una matriz porosa para separar proteínas con base en su movilidad en un campo eléctrico de corriente continua aplicada.
- La proporción casi constante a la cual el detergente aniónico SDS se une a proteínas permite que la SDS-PAGE separe polipéptidos de manera predominante con base en el tamaño relativo.
- Dado que la masa es una propiedad universal de todas las biomoléculas y sus derivados, la MS ha surgido como una técnica versátil aplicable a la determinación de la estructura primaria, la identificación de modificaciones postraduccionales, y la detección de anormalidades metabólicas.
- La clonación de DNA, junto con la química de proteína, proporcionó un método híbrido que aumentó mucho la rapidez y la eficiencia para la determinación de estructuras primarias de proteínas.
- La genómica, la determinación de secuencias de polinucleótidos enteras, proporciona a los investigadores un esbozo de todas las macromoléculas codificadas genéticamente.
- En el análisis proteómico se utilizan datos genómicos para identificar la totalidad de proteínas en una muestra biológica a partir de datos parciales de secuencia de aminoácidos obtenidos al acoplar métodos de separación de proteínas y péptidos con secuenciación mediante MS.
- Un objetivo importante de la proteómica es la identificación de proteínas y de sus modificaciones postraduccionales, cuya aparición o desaparición se correlaciona con fenómenos fisiológicos, el envejecimiento, o enfermedades específicas.
- Bioinformática se refiere al desarrollo de algoritmos de computadora diseñados para inferir las propiedades funcionales de macromoléculas por medio de la comparación de secuencias de proteínas nuevas, con otras cuyas propiedades se conocen.

REFERENCIAS

Anderson L: Six decades searching for meaning in the proteome. J Proteomics 2014;107:24.

Barderas MG, Laborde CM, Posada M, *et al*: Metabolomic profiling for identification of novel potential biomarkers in cardiovascular diseases. J Biomed Biotechnol 2011;2011:790132.

Biemann K: Laying the groundwork for proteomics: Mass spectrometry from 1958 to 1988. J Proteomics 2014;107:62.

Brady PD, Vermeesch JR: Genomic microarrays: A technology overview. Prenat Diagn 2012;32:336.

Deutscher MP (editor): *Guide to Protein Purification*. Methods Enzymol, vol. 182, Academic Press, 1990 (Volumen completo).

Ghafourian S, Sekawi Z, Raftari M, *et al*: Application of proteomics in lab diagnosis. Clin Lab 2013;59:465.

Gorreta F, Carbone W, Barzaghi D: Genomic profiling: cDNA arrays and oligoarrays. Methods Mol Biol 2012;823:89.

LaBorde CM, Mourino-Alvarez L, Akerstrom F, *et al*: Potential blood biomarkers for stroke. Expert Rev Proteomics 2012;9:437.

Levy PA: An overview of newborn screening. J Dev Behav Pediatr 2010;31:622.

Loewenstein Y, Raimondo D, Redfern OC, *et al*: Protein function annotation by homology-based inference. Genome Biol 2009;10:207.

Ruhaak LR, Miyamoro S, Lebrilla CB: Developments in the identification of glycan biomarkers for the detection of cancer. Mol Cell Proteomics 2013;12:846.

Schena M, Shalon D, Davis RW, *et al*: Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. Science 1995;270:467.

Scopes RK: *Protein Purification. Principles and Practice*, 3rd ed. Springer, 1994.

Sun H, Chen GY, Yao SQ: Recent advances in microarray technologies for proteomics. Chem Biol 2013;20:685.

Van Riper SK, de Jong EP, Carlis JV, *et al*: Mass spectrometry-based proteomics: Basic principles and emerging technologies and directions. Adv Exp Med Biol 2013;990:1.

Vaudel M, Sickmann A, Martens L: Introduction to opportunities and pitfalls in functional spectrometry based proteomics. Biochim Biophys Acta 2014;1844:12.

Wood DW: New trends and affinity tag designs for recombinant protein purification. Curr Opin Struct Biol 2014;26:54.

Yates JR, Ruse CI, Nakochevsky A: Proteomics by mass spectrometry: Approaches, advances, and applications. Annu Rev Biomed Eng 2009;11:49.

Zhu H, Qian J: Applications of functional protein microarrays in basic and clinical research. Adv Genet 2012;79:123.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 5

Proteínas: órdenes de estructura superiores

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Indicar las ventajas y desventajas de varios métodos para clasificar proteínas.
- Explicar las estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de proteínas, e ilustrarlas.
- Identificar los principales tipos reconocidos de estructura secundaria, y explicar los motivos supersecundarios.
- Describir la clase y las potencias relativas de las fuerzas que estabilizan cada orden de estructura de proteína.
- Describir la información resumida por medio de un gráfico de Ramachandran.
- Indicar el estado actual del conocimiento respecto al proceso por pasos mediante el cual se cree que las proteínas alcanzan su conformación natural.
- Identificar los papeles fisiológicos en la maduración de proteína de los chaperones, la proteína disulfuro isomerasa, y la peptidilprolina cis-trans-isomerasa.
- Describir las principales técnicas biofísicas que se usan para estudiar las estructuras terciaria y cuaternaria de proteínas.
- Explicar cómo los trastornos genéticos y nutricionales de la maduración del colágeno ilustran el enlace estrecho entre la estructura de proteína y la función de la misma.
- Para las enfermedades por prion, esbozar los eventos generales en su patología molecular, y nombrar las formas de vida que afecta cada una.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En la Naturaleza, la forma sigue a la función. Para que un polipéptido recién sintetizado madure hacia una proteína que sea funcional desde el punto de vista biológico, capaz de catalizar una reacción metabólica, impulsar el movimiento celular, o formar las varillas y los cables macromoleculares que proporcionan integridad estructural a pelo, huesos, tendones y dientes, debe plegarse hacia una disposición tridimensional específica, conocida como **conformación**. Además, durante la maduración, las **modificaciones postraduccionales** pueden añadir nuevos grupos químicos o eliminar segmentos peptídicos transitoriamente necesarios. Las deficiencias genéticas o nutricionales que obstaculizan la maduración de proteínas son nocivas para la salud. Algunos ejemplos de las primeras comprenden enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, encefalopatía espongiforme ovina (*scrapie*) y bovina ("enfermedad de las vacas locas") y enfermedad de Alzheimer. Algunos ejemplos de ello incluyen al escorbuto (ácido ascórbico) y el síndrome de Menkes (Cu). La nueva generación de agentes terapéuticos para hepatitis C y otras enfermedades virales busca bloquear la maduración de las proteínas codificadas viralmente mediante inhibir la actividad de las ciclofilinas —una familia de isomerasas peptidilproteínas *cis-trans*—.

CONFORMACIÓN EN CONTRASTE CON CONFIGURACIÓN

A menudo, los términos "configuración" y "conformación" son confundidos entre sí. **Configuración** alude a la relación geométrica entre un grupo dado de átomos, por ejemplo, los que distinguen entre L-aminoácidos y D-aminoácidos. La interconversión de alternativas *configuracionales* requiere el rompimiento (y reformación) de enlaces covalentes. Por otra parte, **conformación** se refiere a la relación espacial de cada átomo en una molécula. La interconversión entre conformadores ocurre sin rotura de enlace covalente, con retención de la configuración y, de manera típica, por medio de rotación alrededor de enlaces únicos.

EN UN INICIO LAS PROTEÍNAS FUERON CLASIFICADAS POR SUS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

En su primer enfoque, los científicos abordaron las relaciones entre estructura y función en proteínas mediante separarlas en clases con base en propiedades como solubilidad, forma o la presencia de grupos no proteínicos. Así, por ejemplo, las proteínas que pueden ser extraídas de las células usando soluciones acuosas a pH fisiológico y fuerza iónica son clasificadas como **solubles**. La extracción de **proteínas de membrana integrales** requiere disolución de la membrana con detergentes. Las **proteínas globulares** son moléculas compactas, de forma más o menos esférica, con **proporciones axiales** (la proporción entre sus dimensiones más corta y más larga) de no más de 3. Casi todas las enzimas son proteínas globulares. En contraste, muchas proteínas estructurales adoptan conformaciones muy extendidas; tales **proteínas fibrosas** poseen proporciones axiales de 10 o más.

Las **lipoproteínas** y **glucoproteínas** contienen lípidos y carbohidrato unido de manera covalente, respectivamente. La mioglobina, la hemoglobina, los citocromos y muchas otras **metaloproteínas** contienen iones metálicos estrechamente asociados. Si bien han surgido métodos de clasificación más precisos con base en la similitud, u **homología**, en la secuencia y la estructura tridimensional de aminoácidos, aún se usan muchos términos de clasificación antiguos.

LAS PROTEÍNAS SE CONSTRUYEN USANDO PRINCIPIOS MODULARES

Las proteínas desempeñan complejas funciones físicas y catalíticas al colocar grupos químicos específicos en una disposición tridimensional precisa. El andamio polipeptídico que contiene estos grupos debe adoptar una conformación tanto eficiente desde el punto de vista funcional como fuerte en el aspecto físico. A primera vista, la biosíntesis de polipéptidos comprendidos en decenas de miles de átomos individuales parecería en extremo desafiante. Cuando se considera que un polipéptido típico puede adoptar $\geq 10^{50}$ conformaciones distintas, el plegado hacia la conformación apropiada para su función biológica parecería ser aún más difícil. Como se explica en los capítulos 3 y 4, en la síntesis de los esqueletos polipeptídicos de proteínas se emplea un pequeño grupo de bloques de construcción comunes o módulos, los aminoácidos, unidos por una conexión común, el enlace peptídico. De manera similar, una vía modular por pasos simplifica el plegado y el procesamiento de polipéptidos recién sintetizados hacia proteínas maduras.

LOS CUATRO ÓRDENES DE LA ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS

La naturaleza modular de la síntesis y el plegado de proteína están incorporados en el concepto de órdenes de estructura de proteína: **estructura primaria**, la secuencia de los aminoácidos en una cadena polipeptídica; **estructura secundaria**, el plegado de segmentos de polipéptido cortos (3 a 30 residuos) y contiguos, hacia unidades ordenadas de manera geométrica; **estructura terciaria**, el montaje de unidades estructurales secundarias hacia unidades funcionales de mayor tamaño como el polipéptido maduro y los dominios que lo componen y, por último, **estructura cuaternaria**, el número y los tipos de unidades polipeptídicas de proteínas oligoméricas y su disposición espacial.

ESTRUCTURA SECUNDARIA

Los enlaces peptídicos restringen conformaciones secundarias posibles

La rotación libre sólo es posible alrededor de dos de los tres enlaces covalentes del esqueleto polipeptídico: el carbono α (Cα) al carbono carbonilo (Co), y el Cα al enlace de nitrógeno (figura 3-9). El carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico que une el Co al nitrógeno α requiere que el carbono carbonilo, el oxígeno carbonilo y el nitrógeno α permanezcan coplanares, lo que evita la rotación. El ángulo alrededor del enlace de Cα—N recibe el nombre de ángulo fi (Φ), mientras que aquel ubicado alrededor del enlace de Co—Cα es el ángulo psi (ψ). En péptidos, para aminoácidos que no son glicina, casi ninguna combinación de ángulos fi y psi se permite debido a obstáculo estérico (**figura 5-1**). Las conformaciones de prolina son aún más restringidas debido a la ausencia de rotación libre del enlace N—Cα.

Las regiones de estructura secundaria ordenada surgen cuando una serie de residuos aminoacilo adoptan ángulos fi y psi similares. Los segmentos extendidos (p. ej., asas) de polipéptidos llegan a poseer diversos ángulos de ese tipo. Los ángulos que definen los dos tipos más frecuentes de estructura secundaria, la **hélice α** y la **hoja β**, caen dentro de los cuadrantes inferior y

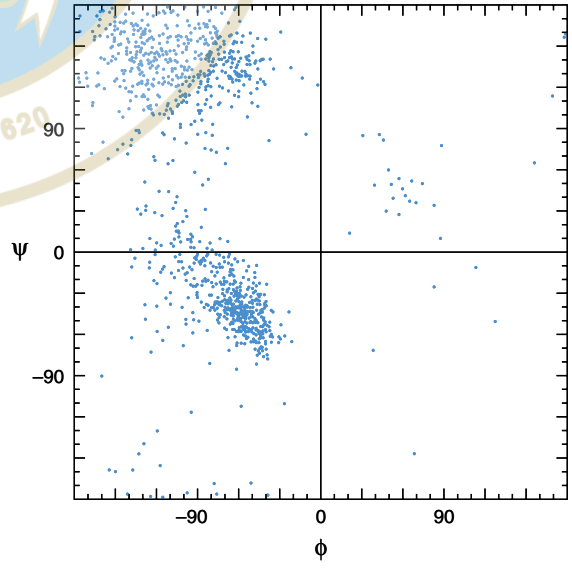


FIGURA 5-1 Gráfico de Ramachandran de los ángulos fi (Φ) y psi (ψ) de la cadena principal para unos 1 000 residuos no glicina en ocho proteínas cuyas estructuras se resolvieron en alta resolución. Los puntos representan combinaciones permisibles, mientras que los espacios indican combinaciones prohibidas de ángulos fi y psi. (Reproducido, con autorización, de Richardson JS: The anatomy and taxonomy of protein structures. Adv Protein Chem 1981;34:167. Copyright © 1981. Reimpreso con autorización de Elsevier.)

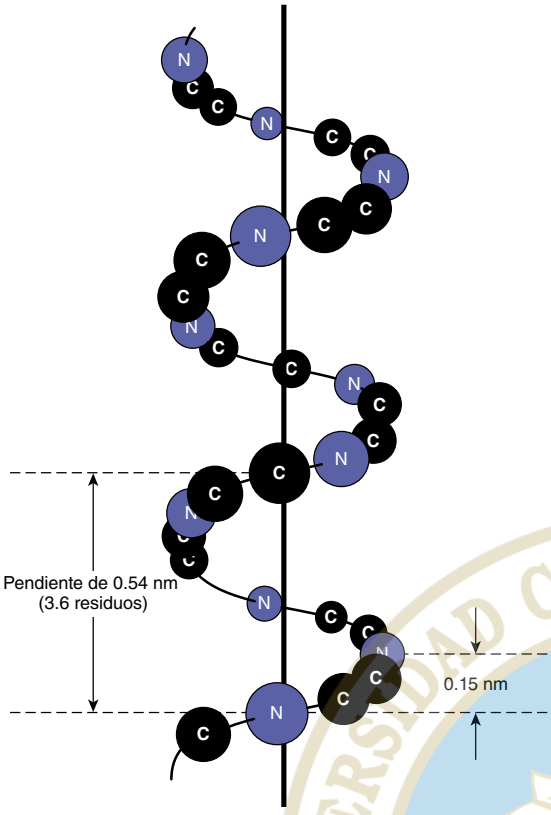


FIGURA 5-2 Orientación de los átomos de la cadena principal de un péptido alrededor del eje de una hélice α.

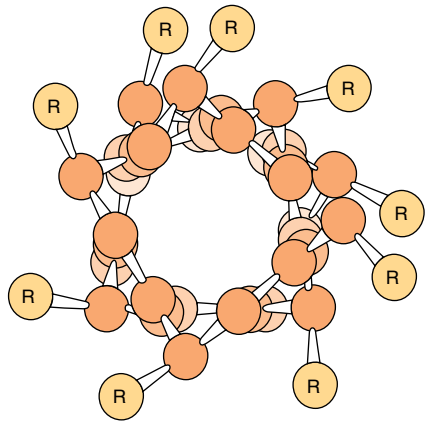


FIGURA 5-3 Eje de una hélice α visto desde arriba. Las cadenas laterales (R) están en el exterior de la hélice. Los radios de Van der Waals de los átomos son de mayor tamaño que el que se muestra aquí; por ende, casi no hay espacio libre dentro de la hélice. (Ligeramente modificado y reproducido, con autorización, de Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L: *Biochemistry*, 7rd ed. Freeman, 2012. Copyright © 2012 W.H. Freeman and Company).

superior izquierdos de un gráfico de Ramachandran, respectivamente (figura 5-1).

Hélice α

El esqueleto polipeptídico de una hélice α está torcido una cantidad igual alrededor de cada carbono α con un ángulo fi de aproximadamente −57° y un ángulo psi de alrededor de −47°. Un giro completo de la hélice contiene un promedio de 3.6 residuos aminoacilo y la distancia que sube por cada giro (su *pendiente*) es de 0.54 nm (**figura 5-2**). Los grupos R de cada residuo aminoacilo en una hélice α miran hacia afuera (**figura 5-3**). Las proteínas sólo contienen L-aminoácidos, para los cuales una hélice α diestra es con mucho la más estable, y en las proteínas sólo hay hélices α diestras. En los diagramas esquemáticos de proteínas se representa a las hélices α como espirales o cilindros.

La estabilidad de una hélice α proviene sobre todo de enlaces (puentes) de hidrógeno formados entre el oxígeno del enlace peptídico del grupo carbonilo y el átomo de hidrógeno del grupo amino (que contiene nitrógeno) del enlace peptídico del cuarto residuo en dirección descendente por la cadena de polipéptido (**figura 5-4**). La capacidad para formar el número máximo de enlaces de hidrógeno, complementada por interacciones de Van der Waals en el centro de esta estructura estrechamente apretada, brinda la fuerza impulsora termodinámica para la formación de una hélice α. Dado que el nitrógeno del enlace peptídico de prolina carece de un átomo de hidrógeno, es incapaz de formar un enlace de hidrógeno con un oxígeno carbonilo. Así, la prolina sólo puede adaptarse de manera estable dentro del primer giro de una hélice α. Cuando está presente en otro sitio, la prolina altera la conformación de la hélice y produce una flexión. Debido a que posee un pequeño grupo R, la glicina a menudo también induce flexiones en hélices α.

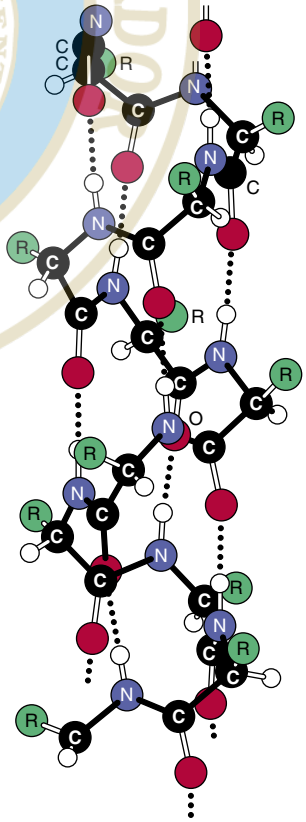


FIGURA 5-4 Los enlaces de hidrógeno (líneas punteadas) formados entre átomos de H y O estabilizan un polipéptido en una conformación helicoidal α. (Reimpreso, con autorización, de Haggis GH *et al.:* Introduction to Molecular Biology. Science 1964, 146:1455-1456. Reimpreso con autorización de AAAS).

En muchas hélices α tienen grupos predominantemente R hidrofóbicos proyectados desde un lado del eje de la hélice y grupos predominantemente R hidrofílicos proyectados desde el otro lado. Estas **hélices anfipáticas** están bien adaptadas a la formación de interfases entre regiones polares y no polares como el interior hidrofóbico de una proteína y su ambiente acuoso. Las agrupaciones de hélices anfipáticas pueden crear un canal, o poro, que permite que moléculas polares específicas pasen a través de membranas celulares hidrofóbicas.

Hoja β

Es la segunda (de ahí su denominación "β") estructura secundaria regular reconocible en las proteínas. Los residuos aminoácidos de una hoja β, cuando se observan de canto, forman un modelo en zigzag o plisado en el cual los grupos R de residuos adyacentes apuntan en direcciones opuestas. A diferencia del esqueleto compacto de la hélice α, el esqueleto peptídico de la hoja β está muy extendido; sin embargo, al igual que la hélice α, gran parte de la estabilidad de las hojas β se deriva de enlaces de hidrógeno entre los oxígenos carbonilo y los hidrógenos amida de enlaces peptídicos. En contraste con la hélice α, estos enlaces se forman con segmentos adyacentes de hoja β (**figura 5-5**).

Las hojas β que interactúan pueden disponerse para formar una hoja β **paralela**, en la cual los segmentos adyacentes de la cadena polipeptídica proceden en la misma dirección amino hacia carbonilo, o una hoja **antiparalela**, en la cual proceden en direcciones opuestas (figura 5-5). Una u otra configuración permite el número máximo de enlaces de hidrógeno entre segmentos, o hebras de la hoja. Casi ninguna hoja β es perfectamente plana, sino que tiende a mostrar una torsión hacia la derecha. Las agrupaciones de hebras torcidas de hoja β forman el centro de muchas proteínas globulares (**figura 5-6**). En diagramas esquemáticos se representa a las hojas β como flechas que apuntan en la dirección amino hacia carboxilo terminal.

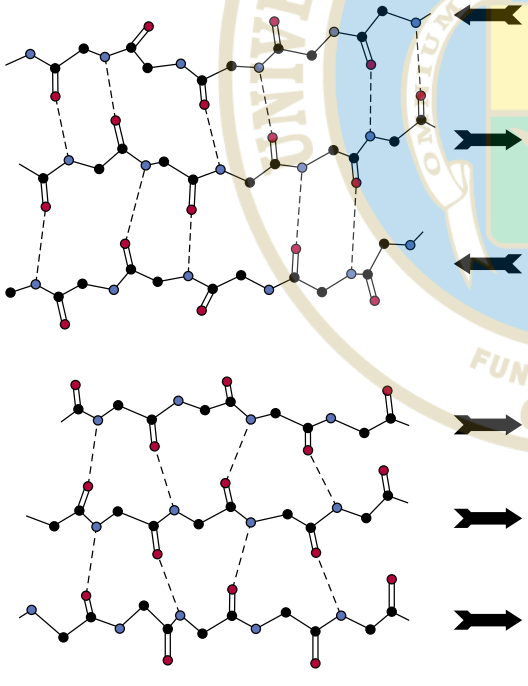


FIGURA 5-5 Espaciamiento y ángulos de enlace de los enlaces de hidrógeno de hojas β plegadas antiparalelas y paralelas. Las flechas indican la dirección de cada hebra. Los enlaces de hidrógeno están indicados por líneas punteadas; los átomos de nitrógeno α (donadores de hidrógeno) y los átomos de oxígeno (aceptores de hidrógeno) participantes se muestran en color azul y rojo, respectivamente. Los átomos de carbono del esqueleto se muestran en color negro. Para favorecer la claridad en la presentación, se omitieron los grupos R y los átomos de hidrógeno. ***Arriba***: hoja β antiparalela; pares de enlaces de hidrógeno alternan entre estar muy juntos y muy separados, y estar orientados en dirección aproximadamente perpendicular al esqueleto polipeptídico. ***Abajo***: hoja β paralela; los enlaces de hidrógeno están espaciados de manera uniforme, pero se inclinan en direcciones alternas.

Asas y flexiones

A grandes rasgos, la mitad de los residuos en una proteína globular "típica" reside en hélices α u hojas β, y la otra mitad en asas, giros, flexiones y otras características conformacionales extendidas. "Giros y flexiones" alude a segmentos cortos de aminoácidos que unen dos unidades de estructura secundaria, como dos hebras adyacentes de una hoja β antiparalela. Un giro β comprende cuatro residuos aminoacilo, en los cuales el primer residuo está enlazado con hidrógeno al cuarto, lo que da por resultado una vuelta de 180° cerrada (**figura 5-7**). La prolina y la glicina a menudo están presentes en giros β.

Las asas son regiones que contienen residuos más allá del número mínimo necesario para conectar regiones adyacentes de estructura secundaria; sin embargo, las asas, que tienen conformación irregular, desempeñan funciones biológicas clave. Para muchas enzimas, las asas que forman puentes entre dominios encargados de la unión de sustratos a menudo contienen residuos aminoacilo que participan en catálisis. Los **motivos de hélice-asa-hélice** proporcionan la porción de unión a oligonucleótido de muchas proteínas de unión a DNA como represores y factores de transcripción. Los motivos estructurales, como el motivo de hélice-asa-hélice que son intermedios entre estructuras secundarias y terciarias, a menudo se denominan **estructuras supersecundarias**. Dado que muchas asas y flexiones residen sobre la superficie de proteínas y, así, quedan expuestas a solvente, constituyen sitios fácilmente accesibles, o **epítopos**, para reconocimiento y unión de anticuerpos.

Si bien las asas carecen de regularidad estructural manifiesta, muchas adoptan una conformación específica estabilizada por medio de formación de enlaces de hidrógeno, puentes salinos, e interacciones hidrofóbicas con otras porciones de la proteína; sin embargo, no todas las porciones de proteínas están necesariamente ordenadas. Las proteínas pueden contener regiones "desordenadas", a menudo en el extremo amino o carboxilo terminal, caracterizadas por una alta flexibilidad conformacional. En muchos casos, estas regiones desordenadas adoptan una conformación ordenada en el momento de unión de un ligando. Tal flexibilidad estructural permite que dichas regiones actúen como conmutadores controlados por ligando que afectan la estructura y la función de proteínas.

Estructura terciaria y cuaternaria

El término "estructura terciaria" se refiere a toda la conformación tridimensional de un polipéptido. Indica, en espacio tridimensional, de qué modo las características estructurales secundarias —hélices, hojas, flexiones, giros y asas— se montan para formar

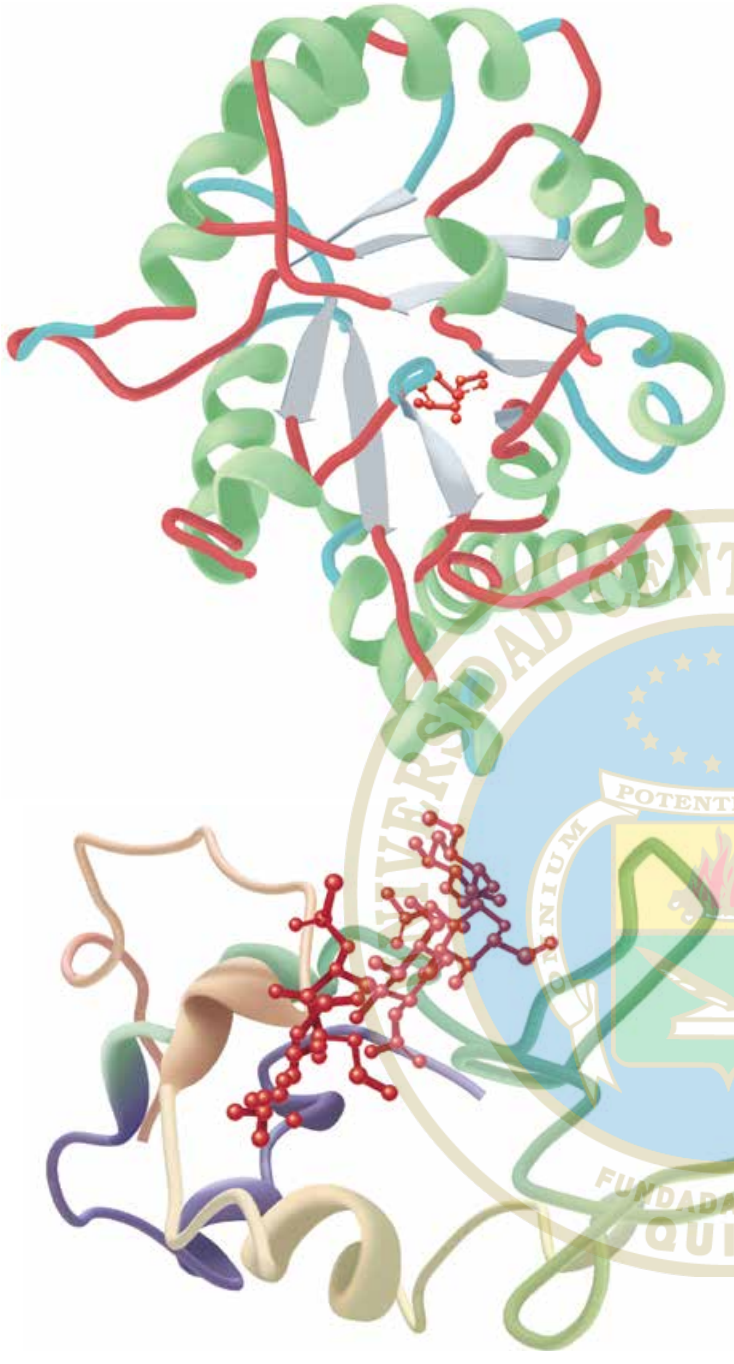


FIGURA 5-6 Ejemplos de la estructura terciaria de proteínas. Arriba: complejo de la enzima triosa fosfato isomerasa con el análogo de sustrato 2-fosfoglicerato (rojo). Advierta la disposición armoniosa y simétrica de hojas β alternantes (azul claro) y hélices α (verde), con las hojas β formando un centro en barril β rodeado por las hélices. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1o5x.) **Abajo**: complejo de lisozima con el análogo de sustrato penta-*N*-acetil quitopentaosa (rojo). El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde púrpura (N terminal) hacia marrón claro (C terminal). Note cómo la forma cóncava del dominio forma una bolsa de unión para el pentasacárido, la ausencia de hoja β, y la proporción alta de asas y flexiones. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1sfb).

dominios, y cómo estos últimos se relacionan desde el punto de vista espacial entre sí. Un **dominio** es una sección de estructura proteínica suficiente para desempeñar una tarea química o física particular, como la unión de un sustrato u otro ligando. Casi todos los dominios son de naturaleza modular, contiguos tanto en secuencia primaria como en espacio tridimensional (**figura 5-8**). Las proteínas simples, en particular las que interactúan con un sustrato único, como lisozima o triosa fosfato isomerasa (figura 5-6), y la proteína de almacenamiento de oxígeno mioglobina (capítulo 6), a menudo constan de un dominio único. En contraste, la lactato deshidrogenasa comprende dos dominios, un dominio de unión a NAD^+ N terminal, y un dominio de unión a C terminal para el segundo sustrato, piruvato (figura 5-8). La lactato deshidrogenasa es una de la familia de oxidorreductasas que comparten un dominio de unión a $NAD(P)^+$ N terminal, conocido como el **pliegue de Rossmann**. Al fusionar el módulo del pliegue de Rossmann a diversos dominios C terminal, ha evolucionado una gran familia de oxidorreductasas que utilizan $NAD(P)^+$/NAD(P)H para la oxidación y reducción de una amplia gama de metabolitos. Los ejemplos son alcohol deshidrogenasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, quinona oxidorreductasa, 6-fosfogluconato deshidrogenasa, D-glicerato deshidrogenasa, formato deshidrogenasa y 3α, 20β-hidroxiesteroide deshidrogenasa.

No todos los dominios unen sustratos. Los dominios de membrana hidrofóbicos fijan proteínas a membranas o les per-

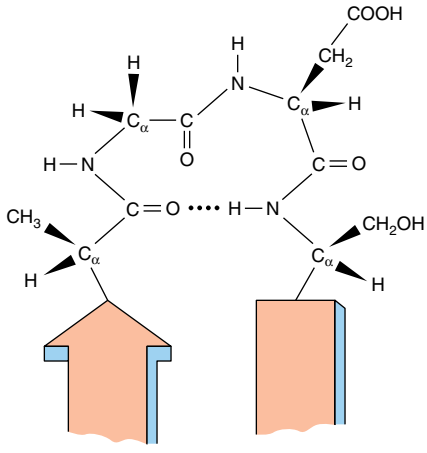


FIGURA 5-7 Un giro β que enlaza dos segmentos de hoja β antiparalela. La línea punteada indica el enlace de hidrógeno entre el primer y cuarto aminoácidos del segmento de cuatro residuos Ala-Gli-Asp-Ser.

miten abarcar membranas. Las secuencias de localización dirigen proteínas hacia ubicaciones subcelulares o extracelulares específicas, como el núcleo, las mitocondrias, vesículas secretoras, etc. Los dominios reguladores desencadenan cambios de la función de proteína en respuesta a la unión de efectores alostéricos o modificaciones covalentes (capítulo 9). Combinar el código del material genético de los módulos de dominio individuales proporciona una ruta fácil para generar proteínas de gran complejidad estructural y funcional (**figura 5-9**).

Las proteínas que contienen múltiples dominios también pueden montarse por medio de la asociación de múltiples polipéptidos o protómeros. La estructura cuaternaria define la composición polipeptídica de una proteína y, para una proteína oligomérica, las relaciones espaciales entre sus protómeros o subunidades. Las proteínas **monoméricas** constan de una cadena polipeptídica única; las proteínas **diméricas** contienen dos cadenas polipeptídicas. Los **homodímeros** contienen dos copias de la misma cadena polipeptídica, mientras que en un **heterodímero** los polipéptidos difieren. Se usan letras griegas (α, β, γ, etc.) para distinguir diferentes subunidades de una proteína heterooligomérica, en tanto que los números en subíndice indican el número de cada tipo de subunidad. Por ejemplo, α_4 designa una proteína homotetramérica, y $\alpha_2b_2\gamma$ una proteína con cinco subunidades de tres tipos diferentes.

Dado que incluso las proteínas pequeñas contienen muchos miles de átomos, las representaciones de la estructura de proteínas que indican la posición de cada átomo por lo general son demasiado complejas como para interpretarlas con facilidad. De este modo, se usan diagramas esquemáticos simplificados para representar características clave de las estructuras terciaria y cuaternaria de una proteína. Los diagramas de cinta (figuras 5-6 y 5-8) trazan la conformación del esqueleto polipeptídico; cilindros y flechas indican regiones de una hélice α y una hoja β, respectivamente. En una representación aún más simple, segmentos de línea que enlazan los carbonos α de cada residuo de aminoácido indican la trayectoria del esqueleto polipeptídico. Tales diagramas esquemáticos a menudo incluyen las cadenas laterales de aminoácidos seleccionados que recalcan relaciones específicas entre estructura y función.

MÚLTIPLES FACTORES ESTABILIZAN LAS ESTRUCTURAS TERCIARIA Y CUATERNARIA

Los órdenes superiores de la estructura de proteínas se estabilizan de manera primordial —y a menudo de forma exclusiva— por medio de interacciones no covalentes. Entre éstas, las principales son interacciones hidrofóbicas que impulsan casi todas las cadenas laterales de aminoácidos hidrofóbicas hacia el interior de la proteína y las protegen contra el agua. Otros contribuidores importantes comprenden enlaces de hidrógeno y puentes salinos entre los carboxilatos de ácidos aspártico y glutámico, y las cadenas laterales con carga opuesta de residuos lisilo, arginilo e histidilo protonados. Tales interacciones son individualmente débiles, 1 a 5 kcal/mol, en comparación con un enlace covalente típico de 80 a 120 kcal/mol; sin embargo, del mismo modo que en un cierre de Velcro se aprovecha la fuerza acumulativa de múltiples asas y ganchos de plástico, en conjunto estas muchas interacciones débiles individualmente confieren un alto grado de estabilidad a la conformación funcional desde el punto de vista biológico de una proteína.

Algunas proteínas contienen enlaces disulfuro covalentes (S—S) que enlazan los grupos sulfhidrilo de residuos cisteinilo. La formación de enlaces disulfuro comprende oxidación de los grupos cisteinilo sulfhidrilo y requiere oxígeno. Los enlaces disulfuro intrapolipeptídicos aumentan más la estabilidad de la conformación plegada de un péptido, mientras que los enlaces disulfuro interpolipeptídicos estabilizan la estructura cuaternaria de ciertas proteínas oligoméricas.

LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL SE DETERMINA MEDIANTE CRISTALOGRAFÍA CON RAYOS X O POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA CON NMR

Cristalografía con rayos X

Después de que en 1960 John Kendrew solucionó la estructura tridimensional de la mioglobina, la cristalografía con rayos X reveló las estructuras de miles de macromoléculas biológicas que van desde proteínas hasta oligonucleótidos y virus. En la solución de esta estructura por medio de cristalografía con rayos X, una proteína se precipita primero en condiciones que forman cristales bien ordenados. Para establecer condiciones apropiadas, en estudios de cristalización se usan algunos microlitros de solución de proteína, y una matriz de variables (temperatura, pH, presencia de sales o solutos orgánicos como polietilén glicol) a fin de establecer condiciones óptimas para la formación de cristales. El primer paso es radiar cristales montados en capilares de cuarzo con rayos X monocromáticos de longitud de onda aproximada de 0.15 nm para confirmar que son proteína, no sal. A continuación los cristales de proteína se pueden congelar en nitrógeno líquido para recolección subsiguiente de un grupo de datos de alta resolución. Los modelos formados mediante los rayos X que son difractados por los átomos en su trayectoria se registran sobre una placa fotográfica o su equivalente en computadoras como un modelo circular de puntos de intensidad variable. A

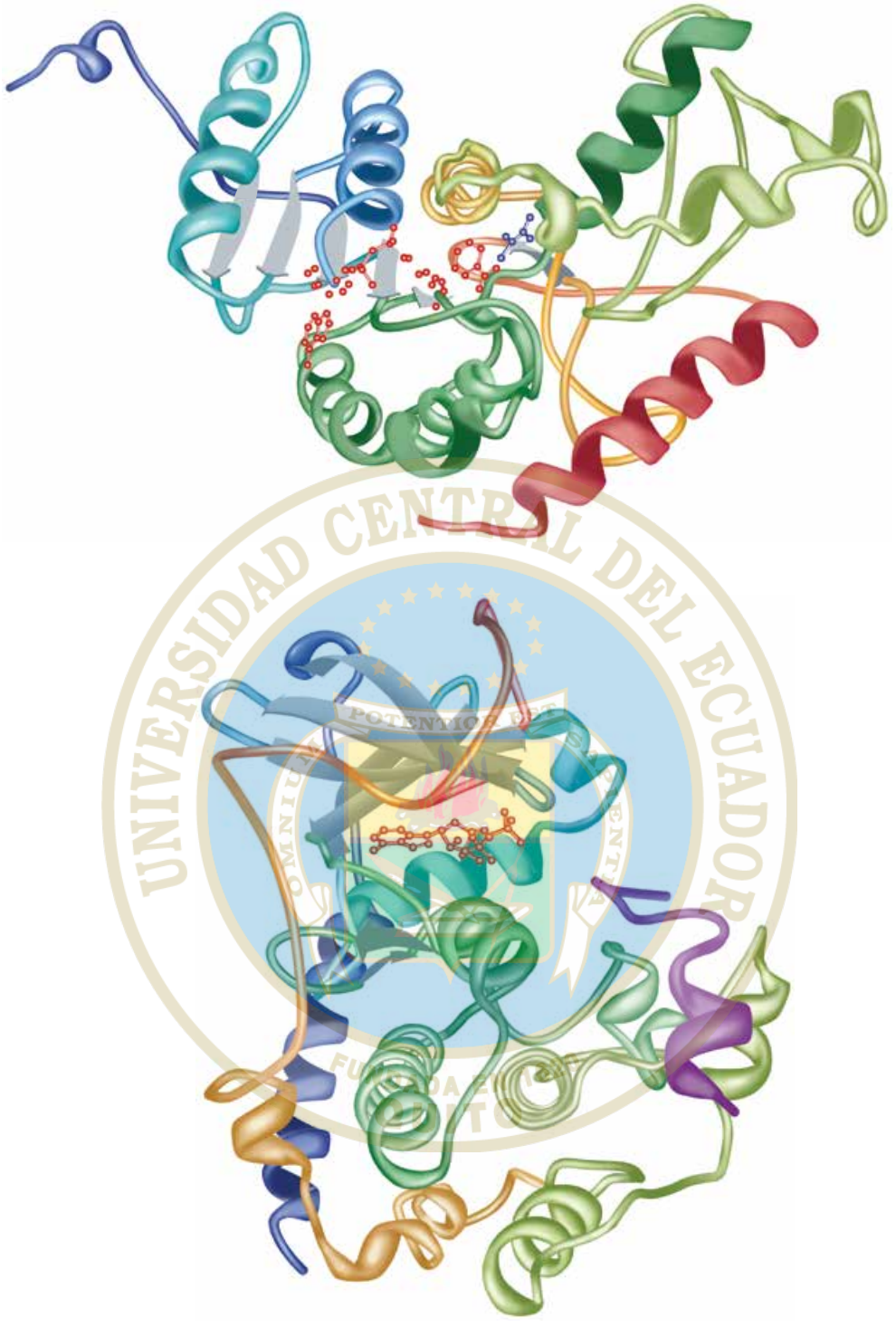


FIGURA 5-8 **Polipéptidos que contienen dos dominios**. **Arriba**: estructura tridimensional de una unidad monómero de la enzima tetramérica lactato deshidrogenasa con los sustratos NADH (rojo) y piruvato (azul) unidos. No todos los enlaces en el NADH se muestran. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta anaranjado (C terminal). Note cómo la porción N terminal del polipéptido forma un dominio contiguo, que abarca la porción izquierda de la enzima, que se encarga de unir NADH. De modo similar, la porción C terminal forma un dominio contiguo que se encarga de unir piruvato. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 3ldh.) **Abajo**: estructura tridimensional de la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de cAMP (capítulo 42) con los análogos de sustrato ADP (rojo) y péptido (púrpura) unidos. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta anaranjado (C terminal). Las proteínas cinasas transfieren el grupo γ-fosfato del ATP a sustratos proteína y péptido (capítulo 9). Note cómo la porción N terminal del polipéptido forma un dominio contiguo rico en hoja β que se une a ADP. De modo similar, la porción C terminal forma un dominio contiguo, rico en hélice α, que se encarga de unir el sustrato péptido. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1jbp).

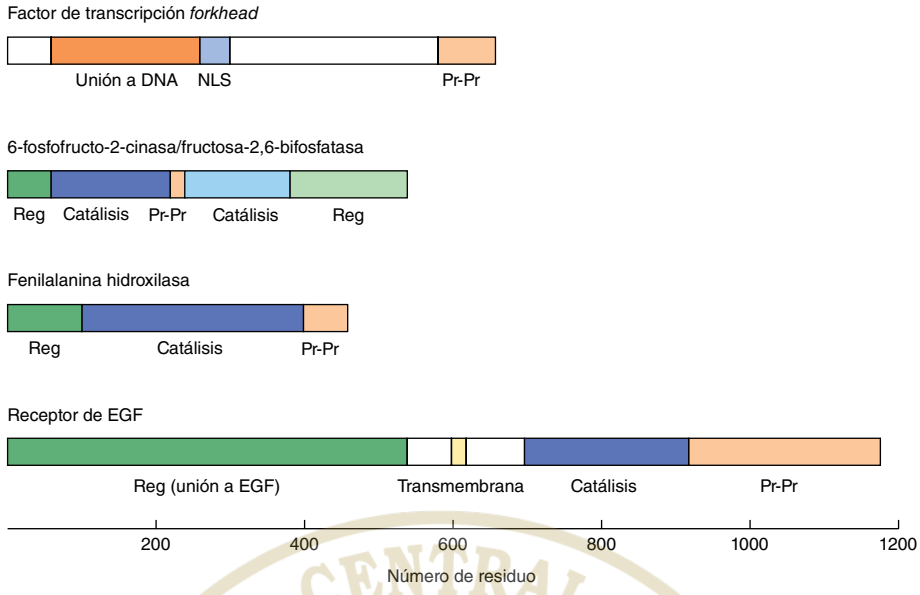


FIGURA 5-9 Algunas proteínas multidominio. Los rectángulos representan las secuencias polipeptídicas de: un factor de transcripción *forkhead*; 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa, una enzima bifuncional cuyas actividades están controladas de una manera recíproca por efectores alostéricos y modificación covalente (capítulo 19); fenilalanina hidroxilasa (capítulos 27 y 29) cuya actividad es estimulada por fosforilación de su dominio regulador, y el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF) (capítulo 41), una proteína transmembrana cuyo dominio proteína cinasa intracelular está regulado por medio de la unión de la hormona peptídica EGF a su dominio extracelular. Los dominios reguladores están coloreados de verde; los dominios catalíticos, de azul oscuro y azul claro; los dominios de interacción entre una proteína y otra, de anaranjado claro; los dominios de unión a DNA, de anaranjado oscuro; las secuencias de localización nuclear, de azul medio, y los dominios transmembrana, de amarillo. Las actividades de cinasa y bifosfatasa de la 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa son catalizadas por los dominios catalíticos cercanos N y C terminales, respectivamente.

continuación los patrones son grabados electrónicamente utilizando un detector de área y se analizan los datos inherentes en estas manchas usando un método matemático llamado una *síntesis de Fourier*, que suma las funciones de onda. Las amplitudes de onda se relacionan con la intensidad de la mancha, pero dado que las ondas no están secuenciadas, es necesario determinar la relación entre sus fases a fin de extrapolar las posiciones de los átomos que han alcanzado el patrón de difracción.

En el método tradicional para la solución del "problema de fase" se emplea **desplazamiento isomorfo**. Antes de la radiación, un átomo, con una "firma" de rayos X distintiva, se introduce en un cristal en posiciones conocidas en la estructura primaria de la proteína. En el desplazamiento isomorfo de átomo pesado por lo general se usa mercurio o uranio, que se une a residuos cisteína. En un método alternativo se utiliza la expresión de proteínas recombinantes codificadas por plásmido, en las cuales el selenio reemplaza al azufre de la metionina. En la expresión se usa un huésped bacteriano auxotrófico para la biosíntesis de metionina y un medio definido en el cual la selenometionina reemplaza a la metionina. De manera alternativa, si la estructura desconocida es similar a una que ya se ha resuelto, el **reemplazo molecular** en un modelo existente proporciona una manera atractiva de secuenciar los datos sin el uso de átomos pesados. Por último, los resultados de las secuencias y las sumas de Fourier proporcionan un perfil de densidad de electrones o mapa tridimensional de cómo los átomos se conectan o relacionan entre sí.

La capacidad de algunas enzimas cristalizadas para catalizar reacciones químicas sugiere de manera firme que las estructuras determinadas mediante cristalografía son, de hecho, representativas de las estructuras presentes en solución libre.

Espectroscopia con resonancia magnética nuclear (NMR)

Es un importante complemento para la cristalografía con rayos X y mide la absorbancia de energía electromagnética de radiofrecuencia por ciertos núcleos atómicos. Los isótopos "activos en NMR" de elementos importantes desde el punto de vista biológico comprenden ^{1}H, ^{13}C, ^{15}N y ^{31}P. La frecuencia, o desviación química, a la cual un núcleo particular absorbe energía está en función tanto del grupo funcional dentro del cual reside, como de la proximidad de otros núcleos activos en la NMR. Alguna vez limitados a metabolitos y macromoléculas relativamente pequeñas, ≤ 30 kDa, en la actualidad es posible analizar proteínas y complejos proteínicos de > 100 kDa mediante NMR. La espectroscopia con NMR bidimensional permite construir una representación tridimensional de una proteína al determinar la proximidad de estos núcleos a otro. En la espectroscopia con NMR se analizan proteínas en una solución acuosa, lo cual no sólo obvia la necesidad de formar cristales (una ventaja particular cuando se trata con proteínas de membrana difíciles de cristalizar), sino que también hace posible la observación en tiempo real de los cambios de conformación que acompañan a la unión a ligando o catálisis. También ofrece la posibilidad de que algún día logre observarse la estructura y la dinámica de proteínas (y metabolitos) dentro de células vivas.

Microscopia por crioelectrones

El desarrollo del microscopio en la década de 1600-1610 por **Van Leeuwenhoek** desencadenó una revolución en la Biología. Por primera vez los científicos pudieron obtener imágenes bidimensionales que revelaron la verdadera naturaleza celular del tejido vivo y la existencia de organismos microbianos. Sin embargo, la resolución de los análisis microscópicos estaba limitada por la relativamente larga longitud de onda de las fuentes de radiación electromagnética disponibles, por lo general la luz visible ($4-7 \times 10^{-7}$ m). Mediante cubrir la dispersión de los materiales en una unicapa con acetato de uranilo u otros compuestos que contienen metales pesados, el microscopio electrónico (EM) logró generar una proyección de imágenes bidimensional a una resolución de unos cuantos Angstroms mediante utilizar electrones de alta energía con longitudes de onda de $1-10 \times 10^{-12}$ m.

Aunque la visualización que se obtiene con un EM es lo bastante alta como para permitir apreciar virus y complejos macromoleculares, la exposición a descargas de electrones de alta energía destruye con rapidez los materiales orgánicos, como proteínas y polinucleótidos. El **microscopio por crioelectrones** (crio-EM) extiende la resolución de EM a materiales biológicos mediante emplear agentes criogénicos —como nitrógeno líquido y helio líquido— para proteger de la destrucción a los materiales orgánicos. Aunque aún no alcanza la resolución a nivel atómico de la cristalografía con rayos X y la espectroscopia NMR, la capacidad de la crio-EM para visualizar macromoléculas individuales permite una buena definición y análisis de sus complejos y estados conformacionales. Más aún, su resolución macromolecular permite que la crio-EM sea empleada en el análisis de los componentes individuales de muestras heterogéneas, en tanto que la cristalografía y la NMR requieren muestras muy grandes y altamente purificadas.

Modelado molecular

Un adjunto cada vez más útil para la determinación empírica de la estructura tridimensional de proteínas es el uso de tecnología de computadora para modelado molecular. Cuando se conoce la estructura tridimensional, es factible utilizar programas de **dinámica molecular** para simular la dinámica conformacional de una proteína, y la manera en la cual factores como temperatura, pH, fuerza iónica o sustituciones de aminoácidos influyen sobre estos movimientos. Los programas de **acoplamiento molecular** simulan las interacciones que tienen lugar cuando una proteína se encuentra con un sustrato, inhibidor u otro ligando. La investigación virtual para moléculas que tienen probabilidades de interactuar con sitios clave sobre una proteína de interés biomédico se usa de manera extensa con el fin de facilitar el descubrimiento de nuevos fármacos.

El modelado molecular también se emplea para inferir la estructura de proteínas para las cuales aún no se dispone de estructuras cristalográficas con rayos X o NMR. Los algoritmos de estructuras secundarias sopesan la propensión de residuos específicos a quedar incorporados hacia hélices α u hojas β en proteínas ya estudiadas para predecir la estructura secundaria de otros polipéptidos. En el **modelado de homología**, la estructura tridimensional conocida de una proteína se usa como una plantilla sobre la cual erigir un modelo de la estructura *probable* de una proteína relacionada. Los científicos están trabajando para idear programas de computadora que predecirán de manera fiable la conformación tridimensional de una proteína de manera directa a partir de su secuencia primaria, lo que permitirá determinar las estructuras de muchas de las proteínas desconocidas para las cuales en la actualidad se carece de plantillas.

PLEGADO DE PROTEÍNA

Las proteínas son moléculas dinámicas desde el punto de vista conformacional que pueden plegarse hacia su conformación competente desde el punto de vista funcional en un marco de tiempo de milisegundos. Más aún, a menudo pueden volver a plegarse si su conformación queda alterada, un proceso conocido como renaturalización. ¿De qué modo se logra este notorio proceso de plegado? En la Naturleza, el plegado hacia el estado natural ocurre demasiado rápido como para ser producto de una búsqueda desordenada de todas las estructuras posibles. Las proteínas desnaturalizadas no son sólo espirales al azar; los contactos naturales son favorecidos y regiones de la estructura natural prevalecen incluso en el estado desnaturalizado. A continuación se comentan los factores que facilitan el plegado y la recuperación del mismo en las proteínas, así como los conceptos actuales relacionados.

La conformación natural de una proteína es favorecida desde el punto de vista termodinámico

El número de combinaciones distintas de ángulos fi y psi que especifican conformaciones potenciales de incluso un polipéptido hasta cierto punto pequeño —15 kDa— es asombrosamente vasto. Las proteínas se guían a través de este vasto laberinto de posibilidades mediante la termodinámica. Dado que la conformación relevante desde el punto de vista biológico —o natural— de una proteína por lo general es la que resulta más favorecida desde el punto de vista energético, el conocimiento de la conformación natural está especificado en la secuencia primaria. No obstante, si se esperara que un polipéptido encontrara su conformación natural mediante exploración al azar de todas las conformaciones posibles, el proceso requeriría miles de millones de años para completarse; queda claro que en la Naturaleza el plegado de proteína en células tiene lugar de una manera más ordenada y guiada.

El plegado es modular

El plegado de proteínas por lo general ocurre mediante un proceso por pasos. En la primera etapa, a medida que el polipéptido recién sintetizado surge a partir del ribosoma, segmentos cortos se pliegan hacia unidades estructurales secundarias que proporcionan regiones locales de estructura organizada; el plegado ahora se reduce a la selección de una disposición apropiada de este número relativamente pequeño de elementos estructurales secundarios. En la segunda etapa, las regiones hidrofóbicas se segregan hacia el interior de la proteína, lejos del solvente, lo que forma un "glóbulo fundido", un polipéptido parcialmente plegado en el cual los módulos de estructura secundaria se reordenan hasta que se logra la conformación madura de la proteína. Este proceso es ordenado, mas no rígido; hay considerable flexibilidad en las formas y el orden en el cual los elementos de

estructura secundaria pueden reordenarse. En general, cada elemento de estructura secundaria o supersecundaria facilita el plegado apropiado al dirigir el proceso de plegado hacia la conformación natural y lo aleja de las alternativas no productivas. En el caso de proteínas oligoméricas, los protómeros individuales tienden a plegarse antes de que se asocien con otras subunidades.

Proteínas auxiliares ayudan al plegado

En condiciones de laboratorio apropiadas, muchas proteínas volverán a plegarse de manera espontánea después de ser **desnaturalizadas** (esto es, desdobladas) mediante tratamiento con ácido o base, agentes caotrópicos o detergentes. Sin embargo, la restitución del plegado en estas circunstancias es lenta —de minutos a horas—. Más aún, algunas proteínas no vuelven a plegarse de manera espontánea *in vitro* y a menudo forman **agregados** insolubles, complejos desordenados de polipéptidos desdoblados o parcialmente plegados que se sostienen juntos principalmente mediante interacciones hidrofóbicas. Los agregados representan callejones sin salida no productivos en el proceso de plegado. Las células emplean proteínas auxiliares para acelerar el proceso de plegado y guiarlo hacia una conclusión productiva.

Chaperones

Las proteínas **chaperón** participan en el plegado de más de la mitad de las proteínas de mamíferos. La familia de chaperones hsp70 (proteína de choque por calor de 70 kDa) se une a secuencias cortas de aminoácidos hidrofóbicos que emergen mientras un nuevo polipéptido está siendo sintetizado, lo que los protege contra solvente. Los chaperones evitan la agregación; de este modo, proporcionan una oportunidad para la formación de elementos estructurales secundarios apropiados y su coalescencia subsiguiente hacia un glóbulo fundido. La familia de chaperones hsp60, a veces llamada **chaperoninas**, difiere en secuencia y estructura de hsp70 y sus homólogos; así, hsp60 actúa más tarde en el proceso de plegado, a menudo junto con un chaperón hsp70. La cavidad central del chaperón hsp60 en forma de rosquilla, proporciona un ambiente protegido en el cual un polipéptido puede plegarse hasta que todas las regiones hidrofóbicas están sepultadas en su interior, lo que previene cualquier tendencia hacia la agregación.

Proteína disulfuro isomerasa

Los enlaces disulfuro entre polipéptidos y dentro de los mismos estabilizan las estructuras terciaria y cuaternaria. El proceso se inicia por la enzima proteín-sulfhidril-oxidasa, el cual cataliza la oxidación de los residuos de cisteína para formar enlaces disulfuro. Sin embargo, la formación de enlace disulfuro es inespecífica, una cisteína dada puede formar un enlace disulfuro con cualquier residuo cisteinilo accesible. Al catalizar el intercambio de disulfuro, la rotura de un enlace S—S y su reformación con una diferente cisteína compañera, la disulfuro isomerasa de proteína, facilita la formación de enlaces disulfuro y estabiliza la conformación natural de una proteína. Dado que varias oxidasas eucarióticas sulfhidrilo son dependientes de flavina, la deficiencia de riboflavina en la dieta a menudo es acompañada de un incremento en la incidencia de un mal plegado de las proteínas que contienen disulfuro.

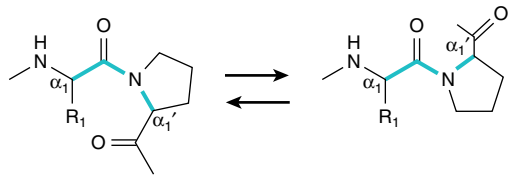


FIGURA 5-10 **La isomerización del enlace peptídico *N*-α1 prolilo desde una configuración *cis* hacia una *trans* respecto al esqueleto del polipéptido.**

Prolina-*cis, trans*-isomerasa

Todos los enlaces peptídicos X-Pro —donde X representa cualquier residuo— se sintetizan en la configuración *trans*. Sin embargo, de los enlaces X-Pro de proteínas maduras, alrededor de 6% es *cis*. La configuración *cis* es en particular frecuente en giros β. La isomerización desde *trans* hacia *cis* es catalizada por la enzima prolina-*cis, trans*-isomerasa, una familia de enzimas también conocidas como ciclofilinas (**figura 5-10**). Además de promover la maduración de las proteínas naturales, las ciclofilinas también participan en el plegamiento de las proteínas expresadas por invasores virales. En consecuencia, las ciclofilinas son un objetivo en el desarrollo de fármacos como la ciclosporina y Alisporivir para el tratamiento del HIV, la hepatitis C y otras enfermedades transmitidas por virus.

El plegado es un proceso dinámico

Las proteínas son moléculas dinámicas desde el punto de vista conformacional, mismas que se pueden plegar y desdoblar cientos o miles de veces durante su lapso de vida. ¿De qué modo las proteínas, una vez desdobladas, se vuelven a plegar y restituyen su conformación funcional? En primer lugar, el desdoblamiento rara vez lleva a la aleatorización completa de la cadena polipeptídica dentro de la célula. Las proteínas desdobladas por lo general retienen varios contactos y regiones de estructura secundaria que facilitan el proceso de reaparición del plegado. En segundo lugar, las proteínas chaperón pueden "rescatar" proteínas desdobladas que han quedado atrapadas en el aspecto termodinámico en un callejón sin salida con plegado erróneo, al desdoblar regiones hidrofóbicas y proporcionar una segunda oportunidad para que se plieguen de manera productiva. El glutatión puede reducir enlaces disulfuro inapropiados que quizá se formen al momento de la exposición a agentes oxidantes, como O_2, peróxido de hidrógeno o superóxido (capítulo 54).

LA PERTURBACIÓN DE LA CONFORMACIÓN DE LA PROTEÍNA PUEDE TENER CONSECUENCIAS PATOLÓGICAS

Priones

Las encefalopatías espongiformes transmisibles, o **enfermedades por prión**, son enfermedades neurodegenerativas mortales caracterizadas por cambios espongiformes, gliomas astrocíticos y pérdida neuronal originada por el depósito de agregados proteínicos insolubles en células neurales. Comprenden la enfermedad

de Creutzfeldt-Jakob en humanos, encefalopatía espongiforme en ovejas y encefalopatía espongiforme en el ganado vacuno (enfermedad de las vacas locas). Una forma variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, la vCJD, misma que afecta a pacientes más jóvenes, se relaciona con trastornos psiquiátricos y conductuales de inicio temprano. Las enfermedades por prión llegan a manifestarse como trastornos infecciosos, genéticos o esporádicos. Dado que es imposible identificar un gen viral o bacteriano que codifica la proteína prión patológica, la fuente y el mecanismo de transmisión de la enfermedad por prión permanecieron sin determinarse durante mucho tiempo.

Hoy es reconocido que **las enfermedades por prión son trastornos de conformación de proteína** que se transmiten al alterar la conformación y, por ende, las propiedades físicas, de proteínas endógenas para el huésped. La proteína relacionada con prión, PrP, de seres humanos, una glucoproteína codificada en el brazo corto del cromosoma 20, en circunstancias normales es monomérica y rica en hélice α. Las proteínas prión patológicas sirven como las plantillas para la transformación conformacional de la PrP normal, conocida como PrPc (celular), hacia PrPsc *("scrapie")*; esta última es rica en hojas β con muchas cadenas laterales aminoacilo hidrofóbicas expuestas a solvente. A medida que se forma cada nueva molécula de PrPsc, desencadena la producción de aún más variantes patológicas en una reacción en cadena conformacional. Dado que las moléculas de PrPsc se relacionan con fuerza entre sí por medio de sus regiones hidrofóbicas expuestas, las unidades de PrPsc que se están acumulando muestran coalescencia y forman agregados resistentes a proteasa insolubles. Puesto que un prión o una proteína relacionada con prión patológico pueden servir como la plantilla para la transformación conformacional de muchas veces su número de moléculas de PrPc, las enfermedades por prión pueden transmitirse mediante la proteína sola sin afección del DNA o el RNA.

Enfermedad de Alzheimer

La reaparición del plegado o el plegado erróneo de otra proteína endógena al tejido cerebral de humanos, el amiloide β, es una característica notoria de la enfermedad de Alzheimer. Si bien la causa principal de dicha enfermedad aún no se ha dilucidado, las placas seniles y los heces neurofibrilares característicos contienen agregados de la proteína amiloide β, polipéptido de 4.3 kDa producido por división proteolítica de una proteína de mayor tamaño conocida como proteína precursora amiloide. En pacientes con enfermedad de Alzheimer, las cifras de amiloide β aumentan, y esta proteína pasa por una transformación conformacional desde un estado rico en hélice α soluble hacia un estado abundante en hoja β y propenso a la autoagregación. La apolipoproteína E ha quedado comprendida como un mediador potencial de esta transformación conformacional.

Talasemias β

Las talasemias se producen por defectos genéticos que alteran la síntesis de una de las subunidades polipeptídicas de la hemoglobina (capítulo 6). En el transcurso del brote de síntesis de hemoglobina que ocurre durante el desarrollo de eritrocitos, un chaperón específico llamado proteína estabilizadora de hemoglobina α (o proteína estabilizante de cadena alfa) (AHSP) se une a subunidades α de hemoglobina libres en espera de incorporación hacia el multímero de hemoglobina. En ausencia de este chaperón, las subunidades de hemoglobina α libres se agregan y el precipitado resultante tiene efectos tóxicos sobre el eritrocito en desarrollo. Investigaciones en ratones modificados desde el punto de vista genético sugieren una participación para la AHSP en la modulación de la gravedad de la talasemia β en humanos.

EL COLÁGENO ILUSTRA LA FUNCIÓN DEL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL EN LA MADURACIÓN DE PROTEÍNA

La maduración de proteína a menudo comprende la formación y la rotura de enlaces covalentes

La maduración de proteínas hacia su estado estructural final a menudo comprende la división o formación (o ambas) de enlaces covalentes, un proceso de **modificación postraduccional**. Muchos polipéptidos en un inicio se sintetizan como precursores de mayor tamaño llamados **proproteínas**. Los segmentos polipeptídicos "extra" en estas proteínas a menudo sirven como secuencias líder que dirigen un polipéptido hacia un organelo particular o facilitan su paso a través de una membrana. Otros segmentos aseguran que la actividad en potencia perjudicial de una proteína —como las proteasas tripsina y quimotripsina—, permanezca inhibida en tanto estas proteínas lleguen a su destino final. Sin embargo, una vez que se satisfacen esos requerimientos transitorios, las regiones peptídicas ahora superfluas se eliminan mediante proteólisis selectiva. Quizá tengan lugar otras modificaciones covalentes que añaden nuevas funcionalidades químicas a una proteína. La maduración del colágeno ilustra ambos procesos.

El colágeno es una proteína fibrosa

El colágeno es la más abundante de las proteínas fibrosas y constituye más de 25% de la masa proteínica en el organismo humano; otras proteínas fibrosas importantes son la queratina y la miosina. Dichas proteínas fibrosas representan una fuente primaria de fuerza estructural para las células (esto es, el citoesqueleto) y los tejidos. La flexibilidad y la fuerza de la piel dependen de una red entrelazada de fibras de colágeno y queratina, mientras que los huesos y los dientes son apuntalados por una red subyacente de fibras de colágeno análogas a los filamentos de acero en el concreto reforzado. El colágeno también está presente en tejidos conjuntivos, como ligamentos y tendones. El alto grado de resistencia a la tracción necesario para satisfacer estas funciones estructurales requiere proteínas alargadas, las cuales se caracterizan por secuencias de aminoácidos repetitivas y una estructura secundaria regular.

El colágeno forma una triple hélice singular

El tropocolágeno, la unidad de repetición de una fibra de colágeno madura, consta de tres polipéptidos de colágeno, cada uno de los cuales contiene alrededor de 1 000 aminoácidos, agrupados en una conformación singular, la triple hélice de colágeno (**figura 5-11**). Una fibra de colágeno madura forma una varilla alargada

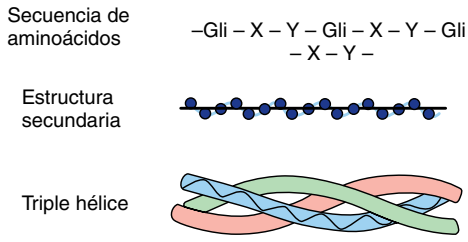


FIGURA 5-11 **Estructuras primaria, secundaria y terciaria del colágeno**.

con una proporción axial de alrededor de 200. Tres hebras polipeptídicas entrelazadas, que se tuercen hacia la izquierda, se envuelven entre sí en dirección hacia la derecha para formar la triple hélice de colágeno. La lateralidad opuesta de esta superhélice y sus polipéptidos componentes hacen que la triple hélice de colágeno sea muy resistente al desdoblamiento —el mismo principio usado en cables de acero de puentes colgantes—. Una triple hélice de colágeno tiene 3.3 residuos por giro y una elevación por cada residuo de cerca de dos veces la de una hélice α. Los grupos R de cada hebra polipeptídica de la triple hélice se aprietan de manera tan estrecha que, para que se ajusten, uno debe ser H, de modo que cada tercer residuo aminoácido en el colágeno es un residuo glicina. El escalonamiento de las tres hebras proporciona una colocación apropiada de las glicinas requisito en toda la hélice. El colágeno también tiene alto contenido de prolina e hidroxiprolina, lo que da un modelo Gli-X-Y repetitivo (figura 5-11), en el cual la Y por lo general es prolina o hidroxiprolina.

Las triples hélices de colágeno se estabilizan mediante enlaces de hidrógeno entre residuos en *diferentes* cadenas polipeptídicas, proceso auxiliado por los grupos hidroxilo de residuos hidroxiprolilo. Enlaces covalentes formados entre residuos lisilo modificados tanto dentro de cadenas polipeptídicas como entre las mismas, proporcionan estabilidad adicional.

El colágeno se sintetiza como un precursor de mayor tamaño

El colágeno en un inicio se sintetiza como un polipéptido precursor de mayor tamaño, el procolágeno. Muchos residuos prolilo y lisilo de procolágeno se hidroxilan mediante la prolilo hidroxilasa y la lisilo hidroxilasa, enzimas que requieren ácido ascórbico (vitamina C; capítulos 27 y 44). Los residuos hidroxiprolilo e hidroxilisilo proporcionan capacidad adicional de formación de enlaces de hidrógeno que estabiliza la proteína madura. Además, las glucosilo y galactosilo transferasas fijan residuos glucosilo o galactosilo a los grupos hidroxilo de residuos hidroxilisilo específicos.

La porción central del polipéptido precursor se asocia entonces con otras moléculas y forma la triple hélice característica; dicho proceso va acompañado de la eliminación del amino terminal globular y de extensiones carboxilo terminales del polipéptido precursor mediante proteólisis selectiva. La lisilo oxidasa, proteína que contiene cobre, que convierte grupos ϵ-amino en aldehídos, modifica ciertos residuos lisilo. Los aldehídos pueden pasar por una condensación de aldol para formar un doble enlace C═C, o para formar una base de Schiff (eneimina) con el grupo ϵ-amino de un residuo lisilo no modificado, que después se reduce y forma un enlace C—N único. Estos enlaces covalentes unen los polipéptidos individuales y confieren a la fibra fuerza y rigidez excepcionales.

Los trastornos nutricionales y genéticos pueden alterar la maduración del colágeno

La compleja serie de eventos en la maduración del colágeno proporciona un modelo que ilustra las consecuencias biológicas de la maduración incompleta de polipéptidos. El defecto mejor conocido de la biosíntesis de colágeno es el **escorbuto**, un resultado de una deficiencia en la dieta de vitamina C requerida por las prolilo y lisilo hidroxilasas. El déficit resultante del número de residuos hidroxiprolina e hidroxilisina socava la estabilidad conformacional de las fibras de colágeno, lo que lleva a encías sangrantes, hinchazón de articulaciones, cicatrización inadecuada de heridas y por último la muerte. El **síndrome de Menkes**, caracterizado por pelo rizado y retraso del crecimiento, refleja una deficiencia en la dieta del cobre requerido por la lisilo oxidasa, que cataliza un paso clave en la formación de enlaces covalentes que fortalecen las fibras de colágeno.

Los trastornos genéticos de la biosíntesis de colágeno comprenden varias formas de osteogénesis imperfecta, la cual se distingue por la presencia de huesos frágiles. En el síndrome de Ehlers-Danlos, un grupo de trastornos del tejido conjuntivo que comprenden alteración de la integridad de las estructuras de apoyo, defectos en los genes que codifican para el colágeno-1, procolágeno *N*-peptidasa o lisilo hidroxilasa, dan por resultado articulaciones móviles y anormalidades de la piel (capítulo 50).

RESUMEN

- Las proteínas pueden clasificarse con base en su solubilidad, forma o función, o según la presencia de un grupo prostético, como hem.
- La estructura primaria codificada por gen de un polipéptido es la secuencia de sus aminoácidos. Su estructura secundaria se produce por plegado de polipéptidos hacia motivos con enlaces de hidrógeno, como la hélice α, la hoja plegada β, flexiones β y asas. Las combinaciones de estos motivos pueden formar motivos supersecundarios.
- La estructura terciaria alude a las relaciones entre dominios estructurales secundarios. La estructura cuaternaria de proteínas que tienen dos o más polipéptidos (proteínas oligoméricas) se refiere a las relaciones espaciales entre diversos tipos de polipéptidos.
- Las estructuras primarias se estabilizan por medio de enlaces peptídicos covalentes. Los órdenes de estructura superiores se estabilizan mediante fuerzas débiles —enlaces de hidrógeno múltiples, enlaces salinos (electrostáticos) y asociación de grupos R hidrofóbicos—.
- El ángulo fi (Φ) de un polipéptido es el ángulo alrededor del enlace C_α—N; el ángulo psi (ψ) es el que hay alrededor del enlace C_α—C_o. Casi todas las combinaciones de ángulos fi-psi son denegadas debido a obstaculización estérica. Los ángulos fi-psi que forman la hélice α y la hoja β caen dentro de los cuadrantes inferior y superior izquierdos de un gráfico de Ramachandran, respectivamente.
- Aún hay poca comprensión en cuanto al proceso del plegado de proteína. En términos generales, los segmentos cortos de polipéptidos recién sintetizados se pliegan hacia unidades estructurales secundarias. Las fuerzas que sepultan regiones

hidrofóbicas desde el solvente después impulsan al polipéptido parcialmente plegado hacia un "glóbulo fundido" en el cual los módulos de estructura secundaria se reordenan para dar la conformación natural de la proteína.

- Las proteínas que ayudan al plegado comprenden la proteína disulfuro isomerasa, prolina-*cis, trans*-isomerasa y los chaperones que participan en el plegado de más de la mitad de las proteínas de mamífero. Los chaperones protegen contra solvente a los polipéptidos recién sintetizados, además de que proporcionan un ambiente para que elementos de la estructura secundaria surjan y muestren coalescencia para formar glóbulos fundidos.
- Investigadores biomédicos están trabajando para desarrollar agentes que interfieran con el plegamiento de proteínas virales y priones, como fármacos para el tratamiento de hepatitis C y una gama de trastornos neurodegenerativos.
- La cristalografía de rayos X y el NMR son técnicas clave utilizadas para estudiar órdenes superiores de la estructura proteínica.
- Aunque no tiene el nivel de resolución de la cristalografía con rayos X o la NMR, la crio-EM ha demostrado ser una poderosa herramienta para analizar las dinámicas macromoleculares de las macromoléculas biológicas en muestras heterogéneas.
- Los priones —partículas de proteína que carecen de ácido nucleico— causan encefalopatías espongiformes transmisibles y mortales, como la enfermedad de Creutzfeldt–Jakob o las encefalopatías espongiformes ovina y bovina. Las enfermedades por prión comprenden una estructura secundaria-terciaria alterada de una proteína natural, la PrPc. Cuando esta última interactúa con su isoforma patológica, PrPSc, su conformación se transforma desde una estructura predominantemente helicoidal α hacia la estructura con hoja β característica de la PrPSc.
- El colágeno ilustra el estrecho enlace entre la estructura de proteínas y la función biológica. Las enfermedades de la maduración del colágeno comprenden el síndrome de Ehlers-Danlos y el escorbuto, la enfermedad por deficiencia de vitamina C.

REFERENCIAS

Doyle SM, Genest O, Wickner S: Protein rescue from aggregates by powerful molecular chaperone machines. Nat Rev Mol Cell Biol 2013;10:617.

Frausto SD, Lee E, Tang H: Cyclophilins as modulators of viral replication. Viruses 2013;5:1684.

Hartl FU, Hayer-Hartl M: Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo. Nat Struct Biol 2009;16:574.

Ho BK, Thomas A, Brasseur R: Revisiting the Ramachandran plot: hard-sphere repulsion, electrostatics, and H-bonding in the α-helix. Protein Sci 2003;12:2508.

Jorgensen WL: The many roles of computation in drug discovery. Science 2004;303:1813.

Jucker M, Walker LC: Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. Nature 2013;501:45.

Kim YE, Hipp MS, Bracher A, *et al*: Molecular chaperone functions in protein folding and proteostasis. Annu Rev Biochem 2013;82:323.

Kong Y, Zhou S, Kihm AJ, *et al*: Loss of alpha-hemoglobin-stabilizing protein impairs erythropoiesis and exacerbates beta-thalassemia. J Clin Invest 2004;114:1457.

Kwan AH, Mobli M, Gooley PR, *et al*: Macromolecular NMR spectroscopy for the non-spectroscopist. FEBS J 2011; 278:687.

Lee J, Kim SY, Hwang KJ, *et al*: Prion diseases as transmissible zoonotic diseases. Osong Public Health Res Perspect 2013;4:57.

Milne JLS, Borgnia MJ, Bartesaghi A, *et al*: Cryo-electron microscopy: A primer for the non-microscopist. FEBS J 2013;280:28.

Manthey KC, Chew YC, Zempleni J: Riboflavin deficiency impairs oxidative folding and secretion of apolipoprotein B-100 in HepG2 cells, triggering stress response systems. J Nutr 2005;135:978.

Myllyharju J: Prolyl 4-hydroxylases, the key enzymes of collagen biosynthesis. Matrix Biol 2003;22:15.

Narayan M: Disulfide bonds: Protein folding and subcellular protein trafficking. FEBS J 2013;279:2272.

Rider MH, Bertrand L, Vertommen D, *et al*: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. Biochem J 2004;381:561.

Shoulders MD, Raines RT: Collagen structure and stability. Annu Rev Biochem 2009;78:929.

Preguntas de examen

Sección I. Estructuras y funciones de proteínas y enzimas

1. Explique cómo la observación de Büchner durante la primera parte del siglo xx llevó al descubrimiento de los detalles de la fermentación.

2. Nombre algunos de los descubrimientos más tempranos que siguieron al entendimiento de que una preparación libre de células, de células de levadura, podía catalizar el proceso de fermentación.

3. Nombre algunos de los tipos de preparaciones de tejido que los bioquímicos de principios del siglo xx emplearon para estudiar la glucólisis y la biosíntesis de la urea, y para descubrir las funciones de derivados de vitaminas.

4. Describa cómo la disponibilidad de isótopos radiactivos facilitó la identificación de intermediarios metabólicos.

5. Nombre varios de los "errores congénitos del metabolismo" identificados por el médico Archibald Garrod.

6. Cite un ejemplo en el metabolismo de lípidos para el cual el enlace de métodos bioquímicos y genéticos ha contribuido al avance de la medicina y de la bioquímica.

7. Nombre varios de los organismos "modelo" intactos cuyos genomas pueden alterarse de manera selectiva para proporcionar información acerca de procesos bioquímicos.

8. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.

   La propensión de las moléculas de agua a formar enlaces de hidrógeno una con otra es el factor primario del cual dependen todas las propiedades del agua que siguen, EXCEPTO:

   A. Su punto de ebullición atípicamente alto.
   B. Su calor de vaporización alto.
   C. Su tensión superficial alta.
   D. Su capacidad para disolver hidrocarburos.
   E. Su expansión en el momento de la congelación.

9. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.

   A. Las cadenas laterales de los aminoácidos cisteína y metionina absorben luz a 280 nm.
   B. La glicina a menudo está presente en regiones donde un polipéptido forma una flexión aguda, lo cual revierte la dirección de un polipéptido.
   C. Los polipéptidos se nombran como derivados del residuo aminoacilo C terminal.
   D. Los átomos de C, N, O y H de un enlace peptídico son coplanares.
   E. Un pentapéptido lineal contiene cuatro enlaces peptídicos.

10. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.

    A. Los amortiguadores del tejido humano son bicarbonato, proteínas y ortofosfato.
    B. Un ácido débil o una base débil muestra su mayor capacidad de amortiguación cuando el pH es igual a su pKa más o menos una unidad de pH.
    C. El pH isoeléctrico (pI) de la lisina puede calcularse al usar la fórmula (pK2 + pK3)/2.
    D. La movilidad de un ácido débil monofuncional en un campo eléctrico de corriente continua alcanza su máximo cuando el pH de su ambiente circundante es igual a su pKa.
    E. En aras de la sencillez, las potencias de las bases débiles por lo general se expresan como la pKa de sus ácidos conjugados.

11. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.

    A. Si la pKa de un ácido débil es de 4.0, 50% de las moléculas estará en el estado disociado cuando el pH del ambiente circundante es de 4.0.
    B. Un ácido débil con una pKa de 4.0 será un amortiguador más eficaz a pH de 3.8 que a pH de 5.7.
    C. A un pH igual a su pI, un polipéptido no porta grupos cargados.
    D. Los ácidos y bases fuertes se denominan así porque se disocian por completo cuando se disuelven en agua.
    E. La pKa de un grupo ionizable puede estar influida por las propiedades físicas y químicas de su ambiente circundante.

12. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.

    A. Un objetivo importante de la proteómica es identificar todas las proteínas presentes en una célula bajo diferentes condiciones, así como sus estados de modificación.
    B. La espectrometría de masa ha reemplazado en su mayor parte al método de Edman para la secuenciación de péptidos y proteínas.
    C. El reactivo de Sanger fue una mejoría del método de Edman porque el primero genera un amino terminal nuevo, lo que permite que tengan lugar varios ciclos de secuenciación consecutivos.
    D. Dado que la masa es una propiedad universal de todos los átomos y moléculas, la espectrometría de masa es ideal para la detección de modificaciones postraduccionales en proteínas.
    E. Los espectrómetros de masa de tiempo de vuelo aprovechan la relación F = ma.

13. ¿Por qué el aceite de oliva añadido a agua tiende a formar gotas grandes?

14. ¿Qué distingue una base fuerte de una base débil?

15. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. La cromatografía de intercambio iónico separa proteínas con base en el signo y la magnitud de su carga a un pH dado.
    B. La electroforesis en gel bidimensional separa proteínas primero con base en sus valores de pI, y en segundo lugar con base en su proporción entre carga y masa con el uso de SDS-PAGE.
    C. La cromatografía de afinidad explota la selectividad de interacciones entre proteína y ligando para aislar una proteína específica de una mezcla compleja.
    D. Muchas proteínas recombinantes se expresan con un dominio adicional fusionado a su N terminal o C terminal. Un componente común de estos dominios de fusión es un sitio de unión a ligando diseñado expresamente para facilitar la purificación mediante cromatografía de afinidad.
    E. Después de purificación mediante técnicas clásicas, la espectrometría de masa en tándem típicamente se usa para analizar péptidos homogéneos individuales derivados de una mezcla de proteínas compleja.

16. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. El plegamiento de proteína es asistido por la intervención de proteínas auxiliares especializadas llamadas chaperones.
    B. El plegamiento de proteína tiende a ser modular; primero se forman áreas de estructura secundaria local, y después coalescen hacia un glóbulo fundido.
    C. El plegamiento de proteína es impulsado en primer lugar por la termodinámica de las moléculas de agua que rodean al polipéptido naciente.
    D. La formación de enlaces S-S en una proteína madura es facilitada por la enzima proteína disulfuro isomerasa.
    E. Sólo algunas proteínas poco comunes, como el colágeno, requieren procesamiento postraduccional mediante proteólisis parcial para alcanzar su conformación madura.

17. Estime el pI para un polielectrólito que contiene tres grupos carboxilo y tres grupos amino, cuyos valores de pKa son 4.0, 4.6, 6.3, 7.7, 8.9 y 10.2.

18. Señale una desventaja de la categorización de los aminoácidos de proteína simplemente como "esenciales" o "no esenciales".

19. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. Las modificaciones postraduccionales de proteínas pueden afectar tanto su función como su destino metabólico.
    B. El estado conformacional natural generalmente es el que es favorecido desde el punto de vista termodinámico.
    C. Las estructuras tridimensionales complejas de casi todas las proteínas se forman y se estabilizan por los efectos acumulativos de un gran número de interacciones débiles.
    D. Los científicos investigadores emplean chips génicos para la detección, con alta capacidad de procesamiento, de la presencia de proteínas y la magnitud de expresión de las mismas.
    E. Los ejemplos de interacciones débiles que estabilizan el plegamiento de proteína incluyen enlaces de hidrógeno, puentes salinos, y fuerzas de Van der Waals.

20. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. Los cambios de configuración comprenden la rotura de enlaces covalentes.
    B. Los cambios de conformación comprenden la rotación de uno o más enlaces únicos.
    C. El gráfico de Ramachandran ilustra el grado al cual el impedimento estérico limita los ángulos permisibles de los enlaces únicos en el esqueleto de un péptido o una proteína.
    D. La formación de una hélice α es estabilizada por los enlaces de hidrógeno entre cada péptido unido a oxígeno carboxilo y el grupo N-H del siguiente enlace peptídico.
    E. En una lámina β, los grupos R de residuos adyacentes apuntan en direcciones opuestas respecto al plano de la lámina.

21. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. El descriptor $\alpha_2\beta_2\gamma_3$ denota una proteína con siete subunidades de tres tipos diferentes.
    B. Los bucles son regiones extendidas que conectan regiones de estructura secundaria adyacentes.
    C. Más de la mitad de los residuos en una proteína típica reside en hélices α o hojas β.
    D. Casi todas las hojas β tienen un giro diestro.
    E. Los priones son virus que causan enfermedades del plegamiento de proteína que atacan el cerebro.

22. ¿Qué ventajas ofrece el grupo ácido del ácido fosfórico que se asocia con pK_2 para amortiguación en tejidos humanos?

23. Se ha determinado que las constantes de disociación para un aminoácido racémico previamente no caracterizado descubierto en un meteoro son pK_1 = 2.0, pK_2 = 3.5, pK_3 = 6.3, pK_4 = 8.0, pK_5 = 9.8 y pK_7 = 10.9:
    A. ¿Qué grupo funcional carboxilo o amino esperaría que se asociara con cada disociación?
    B. ¿Cuál sería la carga neta aproximada de este aminoácido a pH de 2?
    C. ¿Cuál sería su carga neta aproximada a pH de 6.3?
    D. Durante electroforesis con corriente constante a pH de 8.5, ¿hacia cuál electrodo probablemente se movería este aminoácido?

24. Un amortiguador bioquímico es un compuesto que tiende a resistir cambios del pH incluso cuando se agregan ácidos o bases. ¿Qué dos propiedades se requieren de un amortiguador fisiológico eficaz? Además de fosfato, ¿qué otros compuestos fisiológicos satisfacen estos criterios?

25. Nombre dos aminoácidos cuya modificación postraduccional confiera nuevas propiedades importantes a una proteína.

26. Explique por qué las dietas con deficiencia de a) cobre (Cu) o b) ácido ascórbico llevan a procesamiento postraduccional incompleto de colágeno.

27. Describa la función de las secuencias de señal N terminal en la biosíntesis de ciertas proteínas.

SECCIÓN

II

Enzimas: cinética, mecanismo, regulación y bioinformática

CAPÍTULO

6

Proteínas: mioglobina y hemoglobina

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las similitudes y diferencias estructurales más importantes entre la mioglobina y la hemoglobina.
- Dibujar curvas de unión para la oxigenación de mioglobina y hemoglobina.
- Identificar los enlaces covalentes y otras asociaciones estrechas entre el hem y la globina en la oximioglobina y la oxihemoglobina.
- Explicar por qué la función fisiológica de la hemoglobina requiere que su curva de unión a O_2 sea sigmoidea más que hiperbólica.
- Explicar el papel de un ambiente obstaculizado sobre la capacidad de la hemoglobina para unirse a monóxido de carbono.
- Definir la P_{50} e indicar su importancia en el transporte de oxígeno y el aporte del mismo.
- Describir los cambios estructurales y conformacionales en la hemoglobina que acompañan su oxigenación y su desoxigenación subsiguiente.
- Explicar la función del 2,3-difosfoglicerato (BPG) en la unión a oxígeno y el aporte de este último.
- Esbozar la implicación de la hemoglobina en el transporte de CO_2 y protón, y describir los cambios acompañantes de la pK_a del grupo imidazolio importante.
- Describir las consecuencias estructurales para la HbS de la disminución de la pO_2.
- Identificar el defecto metabólico que ocurre como consecuencia de talasemias α y β.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El suministro eficiente de oxígeno de los pulmones a los tejidos periféricos y el mantenimiento de las reservas tisulares para proteger contra episodios de anoxia son esenciales para la salud. En mamíferos, estas funciones son efectuadas por las proteínas hem homólogas hemoglobina y mioglobina, respectivamente. La mioglobina, una proteína monomérica del músculo rojo, se une estrechamente al oxígeno como una reserva contra la privación de oxígeno. Las múltiples subunidades de la hemoglobina, una proteína tetramérica de los eritrocitos, interactúan de una manera cooperadora que permite que este transportador descargue una proporción alta de O_2 unido en tejidos periféricos, mientras que simultáneamente retiene la capacidad para unirse a él con eficiencia en los pulmones. Además de suministrar O_2, la hemoglobina recolecta los productos de desecho de la respiración, CO_2 y protones, para transporte hacia los pulmones y eliminación final por estos últimos. El suministro de oxígeno aumenta por la

unión de 2,3 difosfoglicerato (BPG), que estabiliza la estructura cuaternaria de la desoxihemoglobina. La hemoglobina y la mioglobina ilustran tanto relaciones entre estructura y función de proteína, como la base molecular de trastornos genéticos, como la enfermedad de células falciformes y las talasemias. El cianuro y el monóxido de carbono matan porque alteran la función fisiológica de las proteínas en citocromo oxidasa y hemoglobina, respectivamente.

LOS HIERROS HEM Y FERROSO CONFIEREN LA CAPACIDAD PARA ALMACENAR OXÍGENO Y TRANSPORTARLO

La mioglobina y la hemoglobina contienen **hem (hemo)**, un tetrapirrol cíclico que consta de cuatro moléculas de pirrol enlazadas por puentes de metileno. Esta red planar de dobles enlaces conjugados absorbe luz visible y da al hem un color rojo oscuro. Los sustituyentes en las posiciones β del hem son grupos metilo (M), vinilo (V) y propionato (Pr) dispuestos en el orden M, V, M, V, M, Pr, Pr, M (**figura 6-1**). El átomo de hierro ferroso (Fe^{2+}) reside en el centro del tetrapirrol planar. Otras proteínas con grupos prostéticos tetrapirrol que contienen metal comprenden los citocromos (Fe y Cu) y la clorofila (Mg) (capítulo 31). La oxidación y reducción de los átomos de Fe y Cu de citocromos son esenciales para su función biológica como transportadores de electrones. En contraste, la oxidación del Fe^{2+} de la mioglobina o de la hemoglobina hacia Fe^{3+} destruye su actividad biológica.

La mioglobina es rica en hélice α

El oxígeno almacenado en la mioglobina del músculo rojo, es liberado durante una privación de O_2 (p. ej., ejercicio intenso) para que las mitocondrias del músculo lo utilicen en la síntesis aeróbica de ATP (capítulo 13). La mioglobina, un polipéptido de 153 residuos aminoacilo (masa molecular [MW] de 17 000), se pliega hacia una forma compacta que mide 4.5 × 3.5 × 2.5 nm (**figura 6-2**). Proporciones extraordinariamente altas, alrededor de 75%, de los residuos están presentes en ocho hélices α diestras de 7 a 20 residuos. Empezando en el amino terminal, éstas se denominan hélices A−H. Típico de las proteínas globulares, la superficie de la mioglobina es rica en aminoácidos que tienen cadenas laterales polares y potencialmente cargadas mientras que, salvo sólo un par de excepciones, la interior contiene sólo residuos como Leu, Val, Fen y Met, que posee grupos no polares R. Las excepciones son His E7 e His F8, los residuos séptimo y octavo en hélices E y F, que yacen cerca del hierro hem, donde funcionan en la unión de O_2.

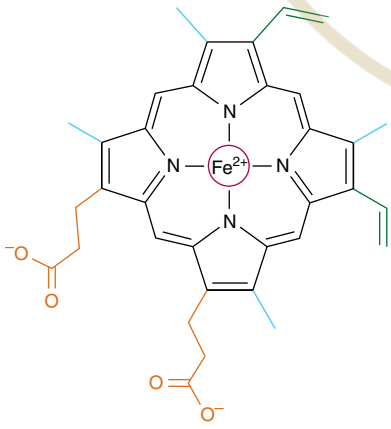


FIGURA 6-1 Hem. Los anillos pirrol y los carbonos puente de metina son coplanares, y el átomo de hierro (Fe^{2+}) reside casi en el mismo plano. Las posiciones de coordinación quinta y sexta del Fe^{2+} son directamente perpendiculares al plano del anillo hem —y se encuentran directamente por arriba y por abajo del mismo—. Observe la naturaleza de los grupos sustituyentes metilo (azul), vinilo (verde) y propionato (anaranjado) sobre los carbonos β de los anillos pirrol, el átomo de hierro central (rojo), y la ubicación del lado polar del anillo hem (aproximadamente a las 7 de la carátula del reloj) que mira hacia la superficie de la molécula de mioglobina.

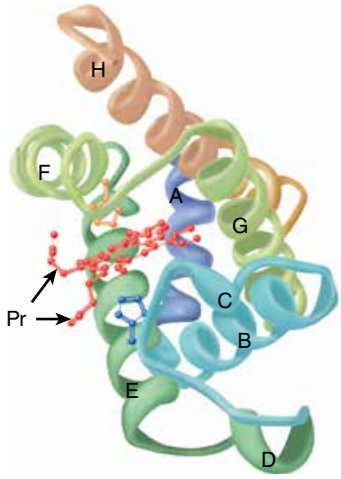


FIGURA 6-2 Estructura tridimensional de la mioglobina. Se muestra un diagrama de cinta que traza el esqueleto polipeptídico de la mioglobina. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta marrón claro (C terminal). El grupo prostético hem se muestra en color rojo. Las regiones helicoidales α están designadas de la A a la H. Los residuos histidina distal (E7) y proximal (F8) están resaltados en azul y naranja, respectivamente. Note de qué modo los sustituyentes propionato polares (Pr) se proyectan hacia afuera del hem hacia el solvente. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1a6n).

Las histidinas F8 y E7 desempeñan funciones singulares en la unión de oxígeno

El hem de la mioglobina yace en una hendidura entre las hélices E y F orientado con sus grupos propionato polares mirando hacia la superficie de la globina (figura 6-2). El resto reside en el interior no polar. La quinta posición de coordinación del hierro está ocupada por un nitrógeno del anillo de imidazol de la **histidina proximal**, His F8. La **histidina distal**, His E7, se ubica en el lado del anillo hem opuesto a His F8.

El hierro se mueve hacia el plano del hem cuando el oxígeno está unido

El hierro de la mioglobina no oxigenada yace a 0.03 nm (0.3 Å) fuera del plano del anillo hem, hacia His F8; por ende, el hem "se pliega" un poco. Cuando el O_2 ocupa la sexta posición de coordinación, el hierro se mueve hacia dentro de 0.01 nm (0.1 Å) del

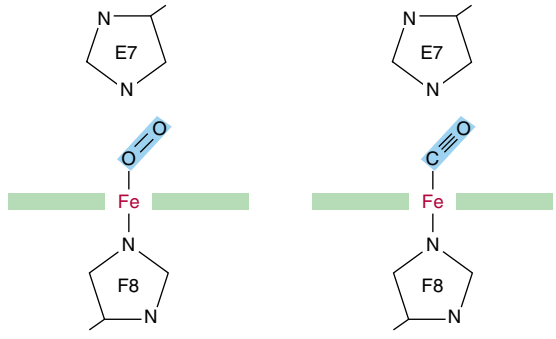


FIGURA 6-3 Ángulos para la unión de oxígeno y monóxido de carbono (CO) al hierro hem de la mioglobina. La histidina E7 distal obstaculiza el enlace de CO en el ángulo preferido (90°) al plano del anillo hem.

plano del anillo hem. De este modo, la oxigenación de la mioglobina se acompaña de movimiento del hierro, de His F8, y de residuos enlazados a este último.

La apomioglobina proporciona un ambiente adverso para el hierro hem

Cuando el O_2 se une a la mioglobina el enlace que une el primer y segundo átomos de oxígeno yace a un ángulo de 121° al plano del hem, lo que orienta al segundo oxígeno en dirección contraria a la histidina distal (**figura 6-3**, izquierda). Esto permite que haya superposición máxima entre el hierro y uno de los pares de electrones solitarios en los átomos de oxígeno hibridados sp^2 que yacen a un ángulo de alrededor de 120° respecto al eje del doble enlace O═O (**figura 6-4**, izquierda). El hem aislado se une al monóxido de carbono (CO) con una fuerza 25 000 veces mayor que la que le une al oxígeno. De este modo, ¿por qué el CO no desplaza por completo el O_2 del hierro hem? El CO está presente en cantidades diminutas pero aún limitadas en la atmósfera, y aumenta en células por el catabolismo del hem. La explicación aceptada es que las apoproteínas de la mioglobina y la hemoglobina crean un ambiente obstaculizado para sus ligandos gaseosos. Cuando el CO se une a hem aislado, los tres átomos (Fe, C y O) yacen en posición perpendicular al plano del hem.

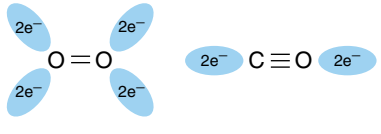


FIGURA 6-4 Orientación de los pares de electrones solitarios respecto a los enlaces O═O y C≡O de oxígeno y monóxido de carbono. En el oxígeno molecular, la formación del doble enlace entre los dos átomos de oxígeno es facilitada por la adopción de un estado de hibridación sp^2 por el electrón de valencia de cada átomo de oxígeno. Como consecuencia, los dos átomos de la molécula de oxígeno y cada par solitario de electrones son coplanares y están separados por un ángulo de alrededor de 120° (**izquierda**). En contraste, los dos átomos del monóxido de carbono están unidos por un triple enlace, que requiere que los átomos de carbono y oxígeno adopten un estado de hibridación sp. En este estado los pares solitarios de electrones y los triples enlaces están dispuestos de una manera lineal, donde están separados por un ángulo de 180° (**derecha**).

Estas características geométricas maximizan la superposición entre el par de electrones solitario sobre el oxígeno hibridado sp de la molécula de CO y el hierro Fe^{2+} (figura 6-4, derecha). Sin embargo, en la mioglobina y la hemoglobina la histidina distal impide estéricamente esta orientación de alta afinidad, preferida, del CO, mientras que aún permite que el O_2 alcance su orientación más favorable. La unión a un ángulo menos favorecido reduce la fuerza del enlace hem-CO a alrededor de 200 veces la del enlace hem-O_2 (figura 6-3, derecha). Así que el O_2, que se halla presente a un nivel muy superior en relación con el CO, por lo normal domina; sin embargo, por lo general alrededor de 1% de la mioglobina está presente combinada con CO.

LAS CURVAS DE DISOCIACIÓN DE OXÍGENO PARA LA MIOGLOBINA Y LA HEMOGLOBINA SON IDÓNEAS PARA SUS FUNCIONES FISIOLÓGICAS

¿Por qué la mioglobina no es adecuada como una proteína de transporte de O_2, pero es ideal para el almacenamiento de O_2? La relación entre la concentración, o presión parcial, de O_2 (PO_2) y la cantidad de O_2 unido se expresa como una isoterma de saturación de O_2 (**figura 6-5**). La curva de unión a oxígeno para la mioglobina es hiperbólica; por ende, la mioglobina carga O_2 con facilidad a la PO_2 del lecho capilar pulmonar (100 mm Hg). Sin embargo, dado que la mioglobina sólo libera una pequeña fracción de su O_2 unido a los valores de PO_2 que por lo general se encuentran en el músculo activo (20 mm Hg) o en otros tejidos (40 mm Hg), representa un vehículo ineficaz para el aporte de O_2. Cuando el ejercicio extenuante disminuye la PO_2 del tejido muscular a alrededor de 5 mmHg, la disociación de O_2 desde la mioglobina permite que continúe la síntesis mitocondrial de ATP y, por ende, la actividad muscular.

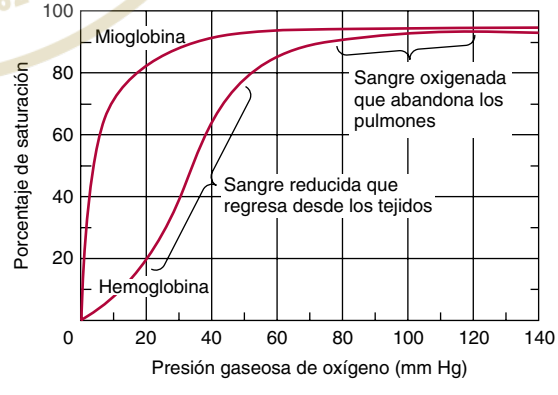


FIGURA 6-5 Curvas de unión a oxígeno de la hemoglobina y la mioglobina. La tensión arterial de oxígeno es de alrededor de 100 mm Hg; la tensión venosa mixta de oxígeno es de alrededor de 40 mm Hg; la tensión de oxígeno capilar (músculo activo) es de cerca de 20 mm Hg, y la tensión de oxígeno mínima requerida para la citocromo oxidasa es de cerca de 5 mm Hg. La asociación de cadenas hacia una estructura tetramérica (hemoglobina) da por resultado un aporte de oxígeno mucho mayor que el que sería posible con cadenas únicas. (Modificado, con autorización, de Scriver CR *et al.* [editors]: *The Molecular and Metabolic Bases of Inherited Disease*, 7th ed. McGraw-Hill, 1995).

LAS PROPIEDADES ALOSTÉRICAS DE LAS HEMOGLOBINAS DEPENDEN DE SUS ESTRUCTURAS CUATERNARIAS

Las propiedades de hemoglobinas individuales son consecuencias de su estructura cuaternaria, así como de sus estructuras secundaria y terciaria. La estructura cuaternaria de la hemoglobina confiere notorias propiedades adicionales, ausentes de la mioglobina monomérica, que la adaptan a sus funciones biológicas singulares. Las propiedades **alostéricas** (del griego *allos* "otro", *steros* "espacio") de la hemoglobina proporcionan, además, un modelo para entender otras proteínas alostéricas (capítulo 17).

La hemoglobina es tetramérica

Las hemoglobinas son tetrámeros compuestos de pares de dos diferentes subunidades polipeptídicas (**figura 6-6**). Se usan letras griegas para designar cada tipo de subunidad. La composición de subunidad de las hemoglobinas principales son $\alpha_2\beta_2$ (HbA; hemoglobina normal del adulto), $\alpha_2\gamma_2$ (HbF; hemoglobina fetal), $\alpha_2\beta^S{}_2$ (HbS; hemoglobina de células falciformes) y $\alpha_2\delta_2$ (HbA_2; una hemoglobina menor del adulto). Las estructuras primarias de las cadenas β, γ y δ de la hemoglobina humana están muy conservadas.

La mioglobina y las subunidades β de la hemoglobina comparten estructuras secundaria y terciaria casi idénticas

A pesar de diferencias en la clase y el número de aminoácidos presentes, la mioglobina y el polipéptido β de la hemoglobina A comparten estructuras secundaria y terciaria casi idénticas. Las similitudes comprenden la localización del hem y las regiones helicoidales, y la presencia de aminoácidos con propiedades similares en ubicaciones comparables. Aunque posee siete —en vez de ocho— regiones helicoidales, el polipéptido α de la hemoglobina también semeja de manera estrecha a la mioglobina.

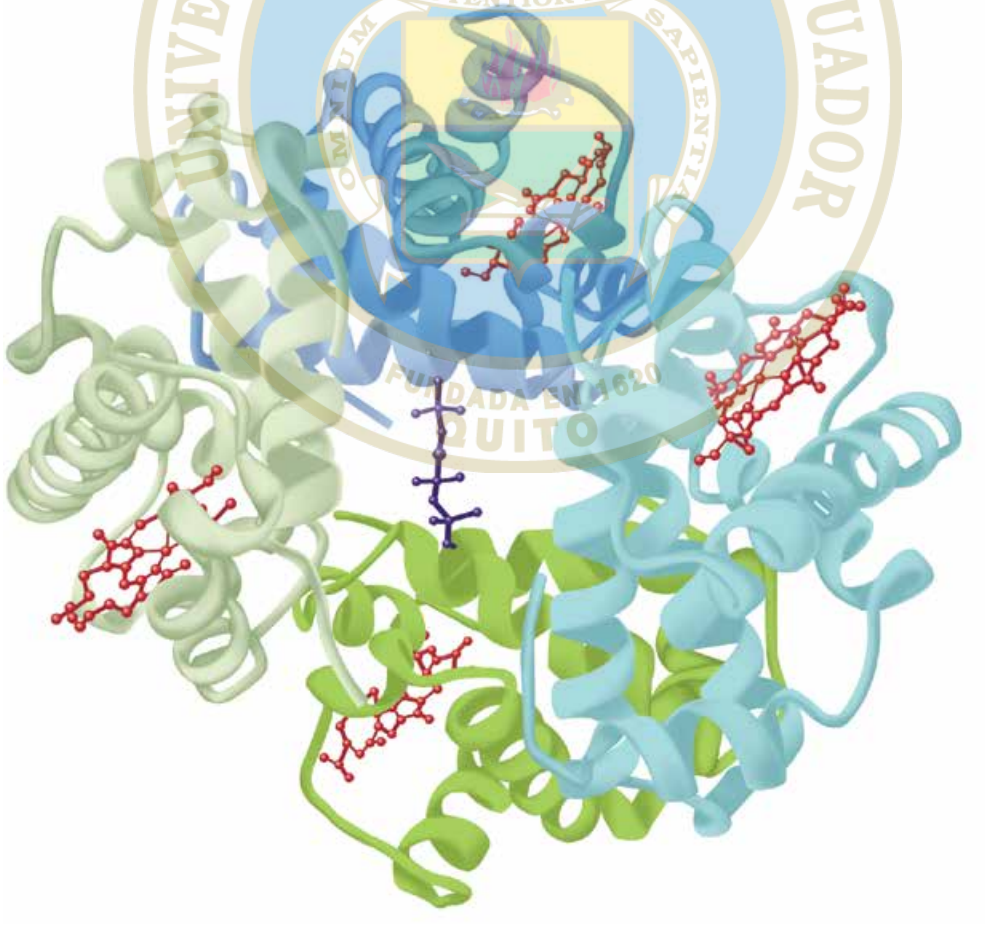


FIGURA 6-6 **Hemoglobina.** Se muestra la estructura tridimensional de la desoxihemoglobina con una molécula de 2,3-bifosfoglicerato (azul oscuro) unida. Las dos subunidades α están coloreadas en los tonos más oscuros de verde y azul, las dos subunidades β en los tonos más claros de verde y azul, y los grupos prostéticos hem en color rojo. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1b86).

La oxigenación de la hemoglobina desencadena cambios de conformación en la apoproteína

Las hemoglobinas unen cuatro moléculas de O_2 por cada tetrámero, uno por cada hem. Una molécula de O_2 se une a un tetrámero de hemoglobina con mayor facilidad si otras moléculas de O_2 ya están unidas (figura 6-5). Este fenómeno, llamado **unión cooperativa**, permite a la hemoglobina maximizar tanto la cantidad de O_2 cargada a la PO_2 de los pulmones, como la cantidad de O_2 liberada a la PO_2 de los tejidos periféricos. Las interacciones cooperativas, una propiedad exclusiva de proteínas multiméricas, tienen importancia crucial para la vida aeróbica.

La P_{50} expresa las afinidades relativas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno

La cantidad P_{50}, una medida de la concentración de O_2, es la presión parcial de O_2 a la cual una hemoglobina dada alcanza la mitad de su saturación. Dependiendo del organismo, la P_{50} puede variar de manera significativa, pero en todos los casos excederá la PO_2 de los tejidos periféricos; por ejemplo, los valores de P_{50} para la HbA y la HbF son de 26 y 20 mm Hg, respectivamente. En la placenta, tal diferencia permite que la HbF extraiga oxígeno de la HbA en la sangre de la madre; sin embargo, la HbF es subóptima posparto porque su alta afinidad por el O_2 limita la cantidad de O_2 suministrado a los tejidos.

La composición de subunidad de tetrámeros de hemoglobina sufre cambios complejos durante el desarrollo. El feto humano en un inicio sintetiza un tetrámero $\zeta_2\varepsilon_2$. Hacia el final del primer trimestre, las subunidades ζ y ε han quedado reemplazadas por subunidades α y γ, lo que forma HbF ($\alpha_2\gamma_2$), la hemoglobina de etapas avanzadas de la vida fetal. Si bien la síntesis de subunidades β empieza durante el tercer trimestre, dichas subunidades no reemplazan por completo a las subunidades γ para producir HbA del adulto ($\alpha_2\beta_2$) sino hasta algunas semanas después del parto (**figura 6-7**).

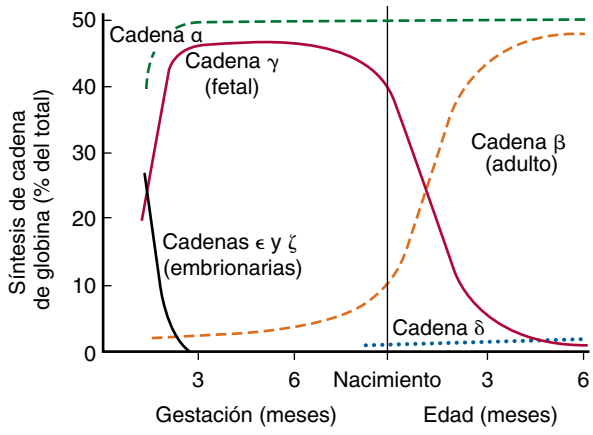


FIGURA 6-7 Patrón vinculado con el desarrollo, de la estructura cuaternaria de las hemoglobinas fetal y del recién nacido. (Reproducido, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 20th ed. McGraw-Hill, 2001).

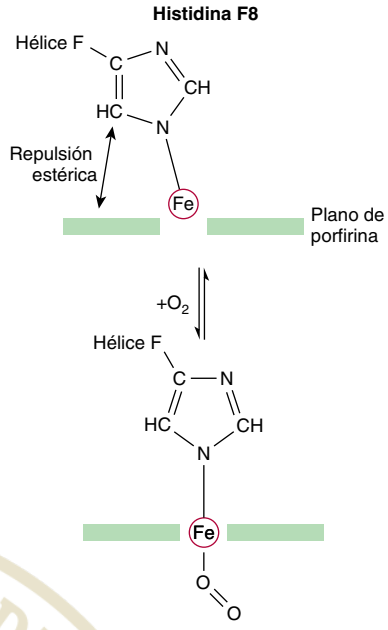


FIGURA 6-8 En el momento de la oxigenación de la hemoglobina el átomo de hierro se mueve hacia el plano del hem. La histidina F8 y sus residuos aminoacilo asociados son empujados junto con el átomo de hierro. Vea una representación de este movimiento en http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=41.

La oxigenación de la hemoglobina se acompaña de grandes cambios de conformación

La unión de la primera molécula de O_2 a la desoxiHb desvía el hierro hem hacia el plano del anillo hem desde una posición alrededor de 0.04 nm más allá del mismo (**figura 6-8**). Este movimiento se transmite a la histidina proximal (F8) y a los residuos fijos a ella lo que, a su vez, causa la rotura de puentes salinos entre los residuos carboxilo terminal de las cuatro subunidades. Como resultado, un par de subunidades α/β rota 15 grados respecto al otro, lo que compacta el tetrámero (**figura 6-9**). Profundos cambios de las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria acompañan a la transición de alta afinidad inducida por O_2 de la hemoglobina desde el **estado T (tenso)** de baja afinidad hacia el **estado R (relajado)** de alta afinidad. Estos cambios aumentan

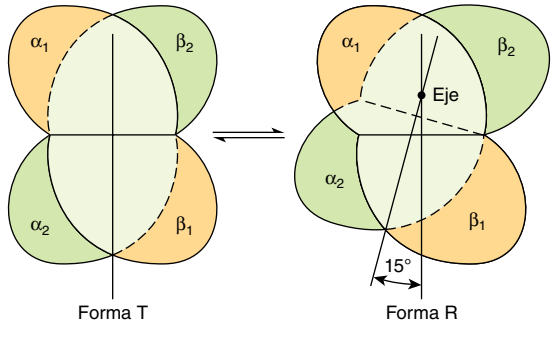


FIGURA 6-9 Durante la transición de la forma T a la forma R de la hemoglobina, el par de subunidades $\alpha_2\beta_2$ (verde) rota por 15° respecto al par de subunidades $\alpha_1\beta_1$ (amarillo). El eje de rotación es excéntrico y el par $\alpha_2\beta_2$ también se desvía un poco hacia el eje. En la representación, el par $\alpha_1\beta_1$ de color marrón claro se muestra fijo, mientras que el par $\alpha_2\beta_2$ de subunidades verde se desvía y rota.

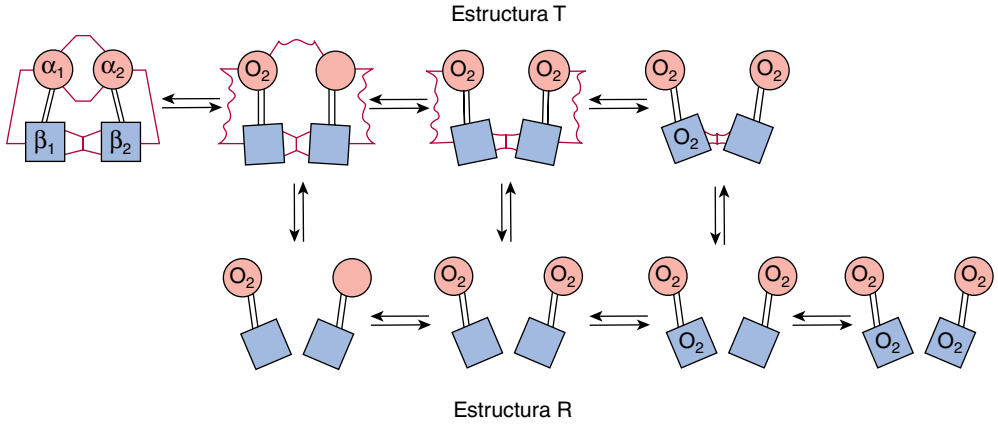


FIGURA 6-10 Transición desde la estructura T hacia la estructura R. En este modelo, los puentes de sal (líneas de color rojo) que enlazan las subunidades en la estructura T se rompen de manera progresiva a medida que se añade oxígeno, e incluso los puentes de sal que todavía no se han roto se debilitan de manera progresiva (líneas de color rojo onduladas). La transición desde T hacia R no tiene lugar después de que un número fijo de moléculas de oxígeno se ha unido, sino que se hace más probable a medida que cada oxígeno sucesivo se une. La transición entre las dos estructuras está influida por protones, dióxido de carbono, cloruro y BPG; mientras más alta es su concentración, debe unirse más oxígeno para desencadenar la transición. Las moléculas por completo oxigenadas en la estructura T, y las moléculas por completo desoxigenadas en la estructura R no se muestran porque son inestables. (Modificado y redibujado, con autorización, de Perutz MF: Hemoglobin structure and respiratory transport. Sci Am [Dec] 1978; 239:92).

de manera importante la afinidad de los hemes no oxigenados restantes por el O_2, puesto que los eventos de unión subsiguientes requieren la rotura de menos puentes salinos (**figura 6-10**). Los términos "T" y "R" también se usan para hacer referencia a las conformaciones de afinidad baja y alta de enzimas alostéricas, respectivamente.

Después de liberar O_2 en los tejidos, la hemoglobina transporta CO_2 y protones hacia los pulmones

Además de transportar O_2 desde los pulmones hacia los tejidos periféricos, la hemoglobina transporta CO_2, el subproducto de la respiración, y protones, desde los tejidos periféricos hacia los pulmones. La hemoglobina porta CO_2 como carbamatos formados con los nitrógenos amino terminal de las cadenas polipeptídicas.

$$CO_2 + Hb{-}NH_3^+ \rightleftharpoons 2H^+ + Hb{-}\underset{\displaystyle H}{\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{N{-}C{-}O^-}}}$$

Los carbamatos cambian la carga en terminales amino desde positiva hacia negativa, lo que favorece la formación de puentes salinos entre las cadenas α y β.

Los carbamatos de hemoglobina explican alrededor de 15% del CO_2 en la sangre venosa. Gran parte del CO_2 restante se transporta como bicarbonato, que se forma en los eritrocitos mediante la hidratación de CO_2 hacia ácido carbónico (H_2CO_3), un proceso catalizado por la anhidrasa carbónica. Al pH de la sangre venosa, el H_2CO_3 se disocia hacia bicarbonato y un protón.

$$CO_2 + H_2O \xrightleftharpoons[\text{ANHIDRASA CARBÓNICA}]{} \underset{\text{Ácido carbónico}}{H_2CO_3} \xrightleftharpoons[\text{(Espontánea)}]{} HCO_3^- + H^+$$

La desoxihemoglobina une un protón por cada dos moléculas de O_2 liberadas, lo que contribuye de manera significativa a la capacidad amortiguadora de la sangre. El pH un poco más bajo de los tejidos periféricos, auxiliado por la carbamación, estabiliza el estado T y, así, aumenta el aporte de O_2. En los pulmones, el proceso se revierte. A medida que el O_2 se une a la desoxihemoglobina, se liberan protones y se combinan con bicarbonato para formar ácido carbónico. La deshidratación del H_2CO_3, catalizada por la anhidrasa carbónica, forma CO_2, que se exhala. De este modo, la unión de oxígeno impulsa la exhalación de CO_2 (**figura 6-11**). Este acoplamiento recíproco de unión de protón y O_2 se denomina **efecto Bohr**, el cual depende de **interacciones cooperativas entre los hemes del tetrámero de hemoglobina**. En contraste, la estructura monomérica de la mioglobina le impide mostrar el efecto Bohr.

Los protones surgen a partir de la rotura de puentes salinos cuando se une O_2

Los protones de los cuales depende el efecto Bohr surgen a partir de la rotura de puentes salinos durante el enlace de O_2 a la hemoglobina en estado T. En los pulmones, la conversión hacia el estado R oxigenado rompe puentes salinos que comprenden el residuo His 146 de la cadena β. La disociación subsiguiente de protones desde His 146 impulsa la conversión de bicarbonato hacia ácido carbónico (figura 6-11). En el momento de la liberación de O_2, vuelven a formarse la estructura T y sus puentes salinos; este cambio en la conformación aumenta la pK_a de los residuos His 146 de la cadena β, que une protones. Al facilitar que vuelvan a formarse puentes salinos, un aumento de la concentración de protón aumenta la liberación de O_2 desde hemoglobina oxigenada (estado R). Por el contrario, un aumento de la PO_2 promueve la liberación de protón.

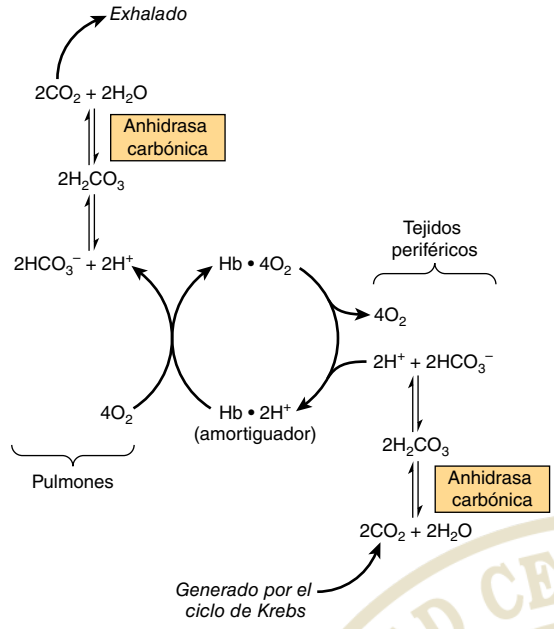


FIGURA 6-11 **El efecto Bohr.** El dióxido de carbono generado en tejidos periféricos se combina con agua para formar ácido carbónico, el cual se disocia hacia protones y iones de bicarbonato. La desoxihemoglobina actúa como un amortiguador al unir protones y llevarlos a los pulmones. En estos últimos, la captación de oxígeno por la hemoglobina libera protones que se combinan con el ion bicarbonato; ello forma ácido carbónico, que cuando se deshidrata mediante la anhidrasa carbónica se convierte en dióxido de carbono, que entonces se exhala.

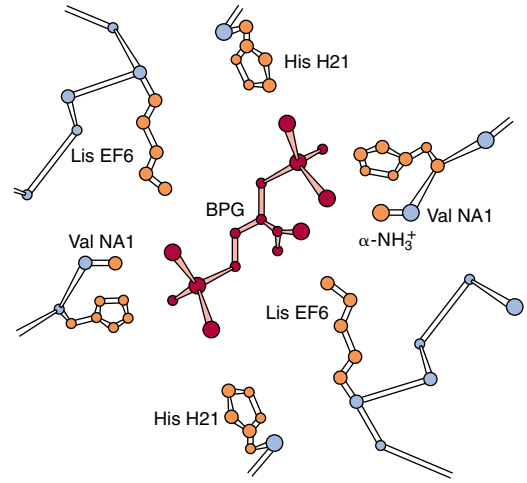


FIGURA 6-12 **Modo de unión del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) a la desoxihemoglobina humana.** El BPG interactúa con tres grupos que tienen carga positiva sobre cada cadena β. (Basado en Arnone A: X-ray diffraction study of binding of 2,3-diphosphoglycerate to human deoxyhemoglobin. Nature 1972;237:146. Copyright © 1972. Adaptado con autorización de Macmillan Publishers Ltd).

El 2,3-BPG estabiliza la estructura T de la hemoglobina

Una PO_2 baja en los tejidos periféricos promueve la síntesis de 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) en eritrocitos. El tetrámero de hemoglobina une una molécula de BPG en la cavidad central formada por sus cuatro subunidades (figura 6-6). Sin embargo, el espacio entre las hélices H de las cadenas β que revisten la cavidad es lo bastante amplio como para dar cabida a BPG sólo cuando la hemoglobina se encuentra en el estado T. El BPG forma puentes salinos con los grupos amino terminal de ambas cadenas β por medio de Val NA1 y con Lis EF6 e His H21 (**figura 6-12**). Por ende, el BPG estabiliza hemoglobina desoxigenada (estado T) mediante la formación de puentes salinos adicionales que deben romperse antes de la conversión al estado R.

La síntesis de BPG a partir del intermediario glucolítico 1,3-bisfosfoglicerato es catalizada por la enzima bifuncional **2,3-bisfosfoglicerato sintasa/2-fosfatasa** (BPGM). El BPG es hidrolizado a 3-fosfoglicerato por la actividad de 2-fosfatasa de la BPGM, y hacia 2-fosfoglicerato por una segunda enzima, la múltiple inositol polifosfato fosfatasa (MIPP). Las actividades de estas enzimas y, por ende, la concentración de BPG en los eritrocitos, son sensibles al pH. Como una consecuencia, la concentración de BPG y la unión del mismo están influidas por, y refuerzan las repercusiones de, el efecto Bohr sobre la unión a, y el suministro de, O_2 por la hemoglobina.

El residuo H21 de la subunidad γ de la HbF es Ser más que His. Dado que Ser no puede formar un puente salino, el BPG se une de manera más débil a la HbF que a la HbA. La estabilización inferior proporcionada al estado T por el BPG explica la mayor afinidad de la HbF por el O_2 que la de la HbA.

Adaptación a altitud elevada

Los cambios fisiológicos que acompañan a la exposición prolongada a altitud elevada comprenden aumentos del número de eritrocitos, la concentración de hemoglobina dentro de ellos, y la síntesis de BPG. El BPG alto disminuye la afinidad de la HbA por el O_2 (aumenta la P_{50}), lo que mejora la liberación de O_2 en los tejidos periféricos.

SE HAN IDENTIFICADO MUCHAS MUTACIONES QUE AFECTAN LAS HEMOGLOBINAS HUMANAS

Las mutaciones en los genes que codifican para las subunidades α o β de la hemoglobina tienen el potencial de afectar su función biológica. Sin embargo, casi todas las más de 1 100 mutaciones genéticas conocidas que afectan las hemoglobinas del ser humano son en extremo raras y benignas; además de que no suscitan anormalidades clínicas. Cuando una mutación compromete la función biológica, el estado recibe el nombre de **hemoglobinopatía**. Se estima que más de 7% de la población mundial es portadora de trastornos de la hemoglobina. En el URL http://globin.cse.psu.edu/ (Globin Gene Server) se proporciona información acerca de hemoglobinas normales y mutantes, y enlaces para las mismas. A continuación se describen ejemplos seleccionados.

Metahemoglobina y hemoglobina M

En la metahemoglobinemia, el hierro hem es férrico en lugar de ferroso, así que la metahemoglobina no puede unirse a O_2 ni transportarlo. En circunstancias normales, la enzima metahemoglobina reductasa reduce el Fe^{3+} de la metahemoglobina hacia Fe^{2+}. La metahemoglobina puede aumentar por oxidación

del Fe^{2+} a Fe^{3+} como un efecto secundario de agentes como sulfonamidas, por hemoglobina M hereditaria, o como consecuencia de actividad reducida de la enzima metahemoglobina reductasa.

En la hemoglobina M, la histidina F8 (His F8) ha quedado reemplazada por la tirosina. El hierro de la HbM forma un complejo iónico apretado con el anión fenolato de la tirosina que estabiliza la forma Fe^{3+}. En las variantes M de hemoglobina de cadena α, el equilibrio de R-T favorece el estado T. La afinidad por el oxígeno está reducida y no hay efecto Bohr. Las variantes M de hemoglobina de cadena β muestran conmutación R-T y, por ende, hay efecto Bohr.

Las mutaciones que favorecen el estado R (p. ej., hemoglobina Chesapeake) aumentan la afinidad por el O_2, de modo que estas hemoglobinas no suministran O_2 adecuado a los tejidos periféricos. La hipoxia hística resultante lleva a **policitemia**, una concentración aumentada de eritrocitos.

Hemoglobina S

En la HbS, el aminoácido no polar valina ha reemplazado al residuo de superficie polar Glu6 de la subunidad β, lo que genera un **"parche pegajoso"** (*"sticky patch"*) hidrofóbico sobre la superficie de la subunidad β tanto de la oxiHbS como de la desoxiHbS. Tanto la HbA como la HbS contienen un "parche pegajoso" complementario sobre sus superficies, que sólo queda expuesto en el estado T desoxigenado. De este modo, a PO_2 baja, la desoxiHbS puede polimerizarse para formar fibras insolubles largas. La unión de la desoxiHbA termina la polimerización de fibra, puesto que la HbA carece del segundo parche pegajoso necesario para unir otra molécula de Hb (**figura 6-13**). Estas fibras helicoidales torcidas producen una deformación falciforme característica del eritrocito, lo que le hace vulnerable a lisis en los intersticios de los sinusoides esplénicos. También causan múltiples efectos clínicos secundarios. Una PO_2 baja, como la que ocurre a grandes altitudes, exacerba la tendencia a polimerizarse. Los tratamientos que están surgiendo para drepanocitosis comprenden inducir la expresión de HbF para inhibir la polimerización de HbS, trasplante de células madre y, en el futuro, terapia génica.

INFERENCIAS BIOMÉDICAS

Mioglobinuria

Después de lesión por aplastamiento masiva, la mioglobina liberada a partir de fibras musculares dañadas tiñe la orina de color rojo oscuro. Es posible detectar mioglobina en plasma después de un infarto de miocardio, pero la valoración de enzimas séricas (capítulo 7) proporciona un índice más sensible de lesión miocárdica.

Anemias

Son reducciones del número de eritrocitos o de la hemoglobina en sangre y en ocasiones reflejan síntesis alterada de hemoglobina (p. ej., en la deficiencia de hierro; capítulo 53) o producción alterada de eritrocitos (p. ej., en la deficiencia de ácido fólico o de vitamina B_{12}; capítulo 44). El diagnóstico de anemias empieza con la medición espectroscópica de las concentraciones sanguíneas de hemoglobina.

Talasemias

Son defectos genéticos que se producen por la falta parcial o total de una o más cadenas α o β de la hemoglobina. Se han identificado más de 750 mutaciones diferentes, pero sólo tres son comunes. Es posible que ocurra afección de la cadena α (talasemia α) o la cadena β (talasemia β). Un número en superíndice indica si una subunidad falta por completo (α^0 o β^0) o si su síntesis está reducida (α^- o β^-). Salvo por el trasplante de médula ósea, el tratamiento es sintomático.

Ciertas hemoglobinas mutantes se observan con frecuencia en muchas poblaciones y una persona puede heredar más de un tipo. De este modo, los trastornos de la hemoglobina presentan un modelo complejo de fenotipos clínicos. El uso de sondas de DNA para su diagnóstico se considera en el capítulo 39.

Hemoglobina glicada (HbA_{1c})

Cuando la glucosa sanguínea entra a los eritrocitos, produce glicación del grupo ϵ-amino de residuos lisina y los amino

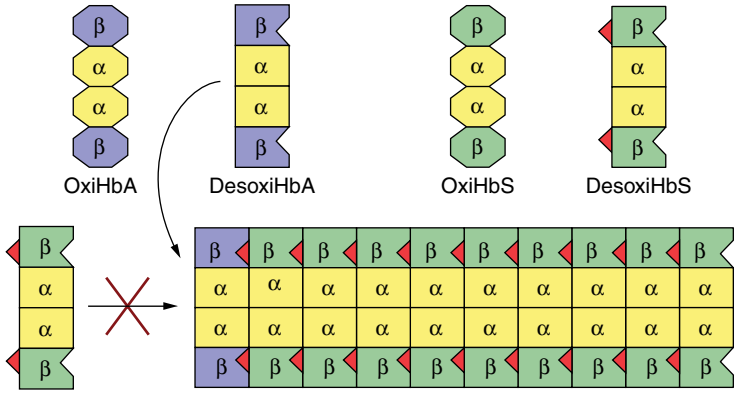


FIGURA 6-13 Polimerización de la desoxihemoglobina S. La disociación de oxígeno de la hemoglobina S (HbS) desenmascara un parche pegajoso (triángulo rojo) sobre la superficie de sus subunidades β (verde) que puede adherirse a un sitio complementario sobre las subunidades β de otras moléculas de desoxiHbS. La polimerización hacia un polímero fibroso es interrumpida por la desoxiHbA, cuyas subunidades β (lila) carecen del parche pegajoso requerido para la unión de subunidades de HbS adicionales.

terminales de la hemoglobina. La fracción de hemoglobina glicada, que por lo normal se ubica alrededor de 5%, es proporcional a la concentración de glucosa en la sangre. Dado que la vida media de un eritrocito es de unos 60 días, la concentración de HbA_{1c} refleja la concentración media de glucosa en sangre durante las 6 a 8 semanas precedentes, de modo que la medición de HbA_{1c} proporciona valiosa información para el manejo de la diabetes mellitus.

RESUMEN

- La mioglobina es monomérica; la hemoglobina es un tetrámero de dos tipos de subunidad ($\alpha_2\beta_2$ en la HbA). Pese a tener estructuras primarias diferentes, la mioglobina y las subunidades de la hemoglobina tienen estructuras secundaria y terciaria casi idénticas.
- El hem, un tetrapirrol cíclico, un poco plegado, en esencia planar, tiene un Fe^{2+} central enlazado a los cuatro átomos de nitrógeno del hem, a la histidina F8 y, en la oxiMb y la oxiHb, también a O_2.
- La curva de una unión a O_2 para la mioglobina es hiperbólica, pero para la hemoglobina es sigmoidea, una consecuencia de interacciones cooperativas en el tetrámero. La cooperatividad maximiza la capacidad de la hemoglobina tanto para cargar O_2 a la PO_2 de los pulmones, como para liberar O_2 a la PO_2 de los tejidos.
- Las afinidades relativas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno se expresan como P_{50}, la PO_2 que las satura 50% con O_2. Las hemoglobinas se saturan a las presiones parciales de su órgano respiratorio respectivo, p. ej., el pulmón o la placenta.
- En el momento de la oxigenación de la hemoglobina, el hierro y la histidina F8 se mueven hacia el anillo hem. Los cambios conformacionales resultantes en el tetrámero de hemoglobina comprenden la rotura de enlaces salinos, y el aflojamiento de la estructura cuaternaria que facilita la unión de O_2 adicional.
- El 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) en la cavidad central de la desoxiHb forma enlaces salinos con las subunidades β que estabilizan a la desoxiHb. En el momento de la oxigenación, la cavidad central se contrae, hay extrusión de BPG y la estructura cuaternaria se afloja.
- La hemoglobina también funciona en el transporte de CO_2 y de protones desde los tejidos hacia los pulmones. La liberación de O_2 desde la oxiHb en los tejidos se acompaña de captación de protones debido a disminución de la pK_a de residuos histidina.
- En la hemoglobina de células falciformes (HbS), la Val reemplaza a la Glu β6 de la HbA, lo que crea un "parche pegajoso" que tiene un complemento sobre la desoxiHb (no así sobre la oxiHb). La desoxiHbS se polimeriza a concentraciones de O_2 bajas, lo que forma fibras que producen deformación falciforme de los eritrocitos.
- Las talasemias α y β son anemias que sobrevienen por producción reducida de subunidades α y β de la HbA, respectivamente.

REFERENCIAS

Cho J, King JS, Qian X, *et al*: Dephosphorylation of 2,3-bisphosphogylcerate by MIPP expands the regulatory capacity of the Rapoport-Luebering glycolytic shunt. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:5998.

Frauenfelder H, McMahon BH, Fenimore PW: Myoglobin: The hydrogen atom of biology and a paradigm of complexity. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:8615.

Hardison RC, Chui DH, Riemer C, *et al*: Databases of human hemoglobin variants and other resources at the globin gene server. Hemoglobin 2001;25:183.

Lukin JA, Ho C: The structure–function relationship of hemoglobin in solution at atomic resolution. Chem Rev 2004;104:1219.

Ordway GA, Garry DJ: Myoglobin: An essential hemoprotein in striated muscle. J Exp Biol 2004;207:3441.

Papanikolaou E, Anagnou NP: Major challenges for gene therapy of thalassemia and sickle cell dsease. Curr Gene Ther 2010;10:404.

Schrier SL, Angelucci E: New strategies in the treatment of the thalassemias. Annu Rev Med 2005;56:157.

Steinberg MH, Brugnara C: Pathophysiological-based approaches to treatment of sickle-cell disease. Annu Rev Med 2003;54:89.

Umbreit J: Methemoglobin—it's not just blue: A concise review. Am J Hematol 2007;82:134.

Weatherall DJ, Akinyanju O, Fucharoen S, *et al*: Inherited disorders of hemoglobin. In: *Disease Control Priorities in Developing Countries*, Jamison DT, Breman JG, Measham AR (editors). Oxford University Press and the World Bank, 2006;663–680.

Weatherall DJ, Clegg JD: *The Thalassemia Syndromes*. Blackwell Science, 2001.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, *et al*: The hemoglobinopathies. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 8th ed. Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors). McGraw-Hill, 2000;4571.

Yonetani T, Laberge M: Protein dynamics explain the allosteric behaviors of hemoglobin. Biochim Biophys Acta 2008;1784:1146.

CAPÍTULO 7

Enzimas: mecanismo de acción

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar y describir las relaciones estructurales entre vitaminas B específicas y ciertas coenzimas.
- Esbozar los cuatro mecanismos principales mediante los cuales las enzimas efectúan catálisis, y cómo estos mecanismos se combinan para facilitar la catálisis.
- Describir el concepto de un "ajuste inducido" y cómo facilita la catálisis.
- Esbozar los principios que subyacen las valoraciones ligadas a enzimas.
- Describir cómo el acoplamiento de una enzima a la actividad de una deshidrogenasa puede simplificar la valoración de la actividad de una enzima dada.
- Identificar enzimas y proteínas cuyas concentraciones plasmáticas se usan para el diagnóstico y el pronóstico de infarto de miocardio.
- Describir la aplicación de endonucleasas de restricción y de polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción en la detección de enfermedades genéticas.
- Ilustrar la utilidad de la mutagénesis dirigida hacia sitio para la identificación de residuos aminoacilo que están involucrados en el reconocimiento de sustratos o efectores alostéricos, o en el mecanismo de la catálisis.
- Describir cómo la adición de "marcas" de afinidad fusionadas por medio de tecnología de DNA recombinante puede facilitar la purificación de una proteína expresada a partir de su gen clonado.
- Indicar la función de proteasas específicas en la purificación de enzimas marcadas por afinidad.
- Comentar los eventos que llevaron al descubrimiento de que los RNA pueden actuar como enzimas y describir brevemente el concepto evolutivo de un "mundo de RNA".

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las enzimas, que catalizan las reacciones químicas que hacen posible la vida sobre la Tierra, participan en la desintegración de nutrientes para proporcionar energía y bloques de construcción químicos; el montaje de esos bloques de construcción hacia proteínas, DNA, membranas, células y tejidos, así como la utilización de energía para impulsar la motilidad celular, la función neural y la contracción muscular. Casi todas las enzimas son proteínas. Las excepciones notables son los RNA ribosomales y un puñado de moléculas de RNA con actividad de endonucleasa o de nucleótido ligasa conocidas en conjunto como ribozimas. La capacidad para detectar y cuantificar la actividad de enzimas específicas en la sangre, otros líquidos tisulares, o extractos de células proporciona información que complementa la capacidad del médico para diagnosticar muchas enfermedades y predecir su pronóstico. Otras aplicaciones médicas comprenden cambios de la cantidad o de la actividad catalítica de enzimas clave que puede ser el resultado de defectos genéticos, déficits nutricionales, daño de tejido, toxinas o infección por virus o bacterias patógenos (p. ej., *Vibrio cholerae*). Los científicos médicos abordan desequilibrios de la actividad enzimática al usar fármacos para inhibir enzimas específicas y están investigando la terapia génica como un medio para remediar déficit de la concentración de enzimas o la función de las mismas.

Además de servir como los catalizadores para todos los procesos metabólicos, su impresionante actividad catalítica, especificidad para sustrato y estereoespecificidad permiten a las enzimas desempeñar funciones clave en otros procesos relacionados con la salud y el bienestar de las personas. Las proteasas y amilasas aumentan la capacidad de los detergentes para eliminar suciedad y colorantes, las enzimas tienen importancia en la producción de productos alimenticios o el aumento del valor nutriente de los mismos tanto para humanos como para animales. Por ejemplo, la proteasa quimosina (renina) se utiliza en la producción de quesos, mientras que la lactasa es empleada para eliminar lactosa de la leche y beneficiar a quienes sufren intolerancia a la lactosa por deficiencia de esta enzima hidrolítica. Finalmente, los catalíticos enzima estereoespecíficos pueden ser en particular valiosos en la biosíntesis de fármacos o antibióticos complejos.

LAS ENZIMAS SON CATALIZADORES EFICACES Y MUY ESPECÍFICOS

Las enzimas que catalizan la conversión de uno o más compuestos **(sustratos)** hacia uno o más compuestos diferentes **(productos)** aumentan los índices de la reacción no catalizada correspondiente por factores de al menos 10^6. Al igual que todos los catalizadores, las enzimas no se consumen ni se alteran de manera *permanente* como consecuencia de su participación en una reacción. Además de ser muy eficientes, las enzimas también son catalizadores en extremo selectivos. Al contrario de casi todos los catalizadores usados en química sintética, las enzimas son específicas tanto para el tipo de reacción catalizada como para un sustrato único o un pequeño conjunto de sustratos estrechamente relacionados. Las enzimas también son catalizadores estereoespecíficos y de manera típica catalizan reacciones de sólo un estereoisómero de un compuesto dado (p. ej., azúcares D, mas no L; aminoácidos de L pero no D). Dado que se unen a sustratos por medio de al menos "tres puntos de fijación", las enzimas incluso pueden convertir sustratos no quirales en productos quirales. En la **figura 7-1** se ilustra por qué la reducción catalizada por enzima del sustrato no quiral piruvato produce sólo L-lactato (en lugar de una mezcla racémica de D- y L-lactato). La especificidad extrema de los catalíticos enzima confiere a las células vivas la capacidad para conducir de manera simultánea y controlar de modo independiente una amplia gama de procesos químicos.

LAS ENZIMAS SE CLASIFICAN POR EL TIPO DE REACCIÓN

Aún se usan algunos de los nombres para enzimas descritos por vez primera durante los días más tempranos de la bioquímica, por ejemplo pepsina, tripsina y amilasa. Sin embargo, en la mayor parte de los casos los primeros bioquímicos designaron a las enzimas recién descubiertas al añadir primero el sufijo *-asa* a un descriptor para el tipo de reacción catalizada. Por ejemplo, las enzimas que eliminan átomos de hidrógeno por lo general se denominan deshidrogen*asas*, las enzimas que hidrolizan proteínas, prote*asas*, en tanto que las enzimas que catalizan reordenamientos de la configuración, isomer*asas*. El proceso se completó al agregar a estos descriptores generales términos que indican el sustrato sobre el cual actúa la enzima (*xantina* oxidasa), su fuente (ribonucleasa *pancreática*), su modo de regulación (lipasa *sensible a hormona*), o un dato característico de su mecanismo de acción (*cisteína* proteasa). Cuando es necesario, se añaden letras o números para identificar múltiples formas de una enzima (p. ej., RNA polimerasa *III*; proteína cinasa *C*β).

Si bien es simple y sencillo, a medida que se descubrieron más enzimas estas convenciones tempranas para asignar nombres dieron lugar cada vez más a la aparición de múltiples nombres para la misma enzima y duplicación en la asignación de nombre a enzimas que mostraban capacidades catalíticas similares.

A fin de resolver estas dificultades, la International Union of Biochemists (IUB) creó un sistema de nomenclatura de enzimas sin ambigüedad en el cual cada enzima tiene un nombre y número de código singular que identifican el tipo de reacción catalizada y los sustratos comprendidos; así, las enzimas se agrupan en seis clases:

1. **Oxidorreductasas:** catalizan oxidaciones y reducciones.
2. **Transferasas:** catalizan la transferencia de porciones, como grupos glucosilo, metilo o fosforilo.
3. **Hidrolasas:** catalizan la división *hidrolítica* de C—C, C—O, C—N y otros enlaces.
4. **Liasas:** catalizan la división de C—C, C—O, C—N y otros enlaces covalentes mediante *eliminación de átomo*, dejando dobles enlaces.
5. **Isomerasas:** catalizan cambios geométricos o estructurales dentro de una molécula.
6. **Ligasas:** catalizan la unión de dos moléculas en reacciones acopladas a la hidrólisis de ATP.

El nombre de la hexocinasa según la IUB es ATP:D-hexosa 6-fosfotransferasa. E.C. 2.7.1.1; dicho nombre identifica a la hexocinasa como un miembro de la clase 2 (transferasas), subclase 7 (transferencia de un grupo fosforilo), subsubclase 1 (el alcohol es el aceptor de fosforilo), y "hexosa-6" indica que el alcohol fosforilado está en el carbón 6 de una hexosa. A pesar de su claridad, los nombres establecidos por la IUB son largos y hasta cierto punto engorrosos, de modo que en general se sigue haciendo referencia a la hexocinasa y muchas otras enzimas por sus nombres tradicionales, aunque a veces ambiguos. Por otro lado, los números E.C. son en particular útiles para diferenciar enzimas que tienen funciones o actividades catalíticas similares, según se ilustra por su utilización en los capítulos de la sección VI.

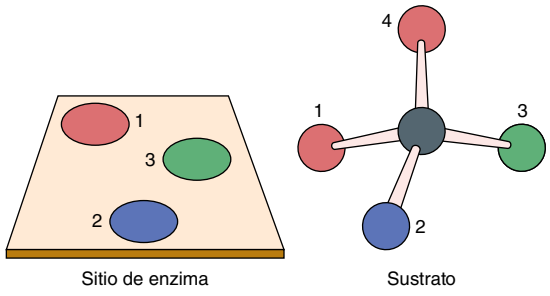


FIGURA 7-1 Representación planar de la "fijación de tres puntos" de un sustrato al sitio activo de una enzima. Aunque los átomos 1 y 4 son idénticos, una vez que los átomos 2 y 3 se unen a sus sitios complementarios en la enzima, sólo el átomo 1 puede unirse. De este modo, una vez unidos a una enzima, átomos al parecer idénticos pueden ser distinguibles, lo que permite un cambio químico estereoespecífico.

LOS GRUPOS PROSTÉTICOS, LOS COFACTORES Y LAS COENZIMAS TIENEN FUNCIONES IMPORTANTES EN LA CATÁLISIS

Muchas enzimas contienen pequeñas moléculas no proteínicas y iones metálicos que participan de manera directa en la unión de sustrato o en la catálisis. Denominados **grupos prostéticos**, **cofactores** y **coenzimas**, éstos extienden el repertorio de capacidades catalíticas más allá de las proporcionadas por el número limitado de grupos funcionales presentes en las cadenas laterales aminoacilo de péptidos.

Los grupos prostéticos están estrechamente integrados en la estructura de una enzima

Los grupos prostéticos se distinguen por su incorporación estrecha y estable hacia la estructura de una proteína mediante fuerzas covalentes o no covalentes. Los ejemplos son fosfato de piridoxal, flavina mononucleótido (FMN), flavina adenina dinucleótido (FAD), pirofosfato de tiamina y biotina. Los iones metálicos son el grupo prostético más común; cerca de un tercio de todas las enzimas que contienen iones metálicos unidos Fe, Co, Cu, Mg, Mn y Znreciben el nombre de **metaloenzimas**. Los iones metálicos que participan en reacciones redox por lo general forman complejos con grupos prostéticos como el hem (capítulos 6 y 31) o agrupaciones de hierro-azufre (capítulo 12). Los metales también pueden facilitar la unión y orientación de sustratos, la formación de enlaces covalentes con intermediarios de reacción (Co^{2+} en la coenzima B_{12}, capítulo 44), o al actuar como ácidos de Lewis o bases para hacer los sustratos más **electrofílicos** (con pocos electrones) o **nucleofílicos** (ricos en electrones) y, por tanto, más reactivos.

Los cofactores se asocian de manera reversible con enzimas o sustratos

Los **cofactores** pueden asociarse de manera directa con la enzima o en forma de un complejo de cofactor-sustrato. Si bien los cofactores desempeñan funciones similares a las de los grupos prostéticos, se unen de una manera transitoria, disociable. Por ende, al contrario de los grupos prostéticos asociados, para que ocurra catálisis debe haber cofactores en el medio que rodea a la enzima. Los cofactores más comunes también son iones metálicos. Las enzimas que requieren un cofactor ion metálico se llaman **enzimas activadas por metal** para distinguirlas de las **metaloenzimas** para las cuales los iones metálicos sirven como grupos prostéticos.

Muchas coenzimas, cofactores y grupos prostéticos son derivados de vitaminas B

Las vitaminas B hidrosolubles proporcionan componentes importantes de muchas coenzimas. La **nicotinamida** es un componente de las coenzimas redox NAD y NADP (figura 7-2), mientras que la **riboflavina** es un componente de las coenzimas redox FMN y FAD. El **ácido pantoténico** es un componente del acarreador de grupo acilo, **coenzima A**. Como su pirofosfato, la **tiamina** participa en la descarboxilación de α-cetoácidos, y las coenzimas ácido fólico y **cobamida** funcionan en el metabolismo de un carbono. Además, varias coenzimas contienen las porciones adenina, ribosa y fosforilo del AMP o el ADP (figura 7-2).

Las coenzimas sirven como transbordadores de sustrato

Las **coenzimas** sirven como transbordadores reciclables que transportan muchos sustratos de un punto a otro dentro de la célula. Estos transbordadores tienen doble función: en primer lugar, estabilizan especies, como átomos de hidrógeno (FADH) o iones híbridos (NADH) que son demasiado reactivos como para persistir durante cualquier tiempo importante en presencia del agua o las moléculas orgánicas que permean células. En segundo lugar, sirven como un adaptador o mango que facilita el reconocimiento y la unión de grupos químicos pequeños, como el acetato (coenzima A) o la glucosa (UDP), por sus enzimas blanco. Otras porciones químicas transportadas por coenzimas son grupos metilo (folatos) y oligosacáridos (dolicol).

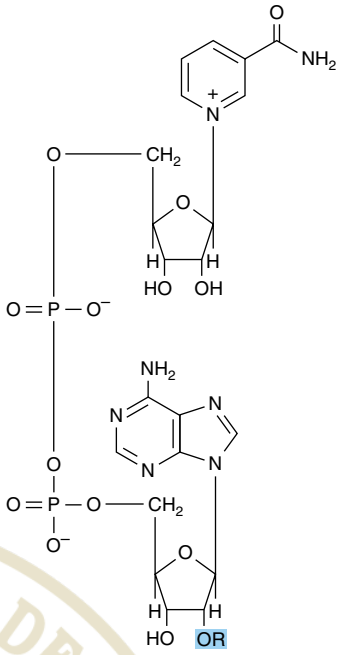


FIGURA 7-2 Estructura del NAD^+ y $NADP^+$. Para NAD^+, OR = —OH; para $NADP^+$, —OR = $—OPO_3^{2-}$.

LA CATÁLISIS OCURRE EN EL SITIO ACTIVO

Una importante información de principios del siglo xx acerca de la catálisis enzimática provino de la observación de que la presencia de sustratos hace a las enzimas más resistentes a los efectos desnaturalizantes de las temperaturas altas. Dicha observación llevó a Emil Fischer a proponer que las enzimas y sus sustratos interactúan para formar un complejo de enzima-sustrato (ES) cuya estabilidad térmica fue mayor que la de la enzima en sí. Este conocimiento impactó de manera profunda sobre la comprensión tanto de la naturaleza química como de la conducta cinética de la catálisis enzimática.

Fischer razonó que la especificidad en extremo alta con la cual las enzimas distinguen sus sustratos cuando están formando un complejo de ES era análoga a la manera en la cual una cerradura mecánica distingue la llave apropiada. La analogía para las enzimas es que la "cerradura" está formada por una hendidura o una bolsa en la superficie de la proteína que forma parte de una región llamada el **sitio activo** (figuras 5-6 y 5-8). Como lo indica el adjetivo "activo", el sitio activo es mucho más que simplemente un sitio de reconocimiento para la unión de sustratos, pues provee el entorno necesario en el que la transformación química tiene lugar. Dentro del sitio activo, los sustratos son acercados estrechamente uno a otro en la alineación óptima con los cofactores, grupos prostéticos y cadenas laterales de aminoácidos que se encargan de catalizar su transformación química en productos (**figura 7-3**). La catálisis es aumentada más por la capacidad del sitio activo

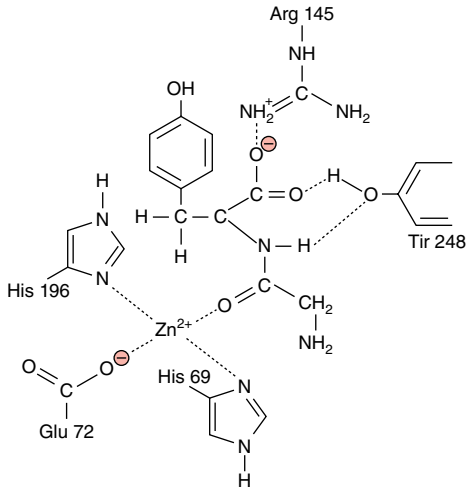


FIGURA 7-3 **Representación bidimensional de un sustrato dipéptido, glicil-tirosina, unido dentro del sitio activo de la carboxipeptidasa A.**

para proteger sustratos contra agua y generar un ambiente cuya polaridad, hidrofobicidad, acidez o alcalinidad puede diferir de manera notoria de la que hay en el citoplasma circundante.

LAS ENZIMAS EMPLEAN MÚLTIPLES MECANISMOS PARA FACILITAR LA CATÁLISIS

Las enzimas usan diversas combinaciones de cuatro mecanismos generales para lograr notorio aumento catalítico de los índices de reacciones químicas.

Catálisis por proximidad

Para que las moléculas reaccionen, deben acercarse hasta ubicarse dentro de la distancia formadora de enlace de otra. Mientras más alta sea su concentración, con mayor frecuencia se encontrarán una con otra y mayor será el índice de su reacción.

Cuando una enzima se une a moléculas de sustrato en su sitio activo, crea una región de concentración local alta de sustrato en la cual las moléculas de sustrato están orientadas en una posición ideal para que interactúen químicamente. Esto se traduce en aumentos de al menos 1 000 veces de la tasa en comparación con la misma reacción no catalizada por enzima.

Catálisis acidobásica

Además de contribuir a la capacidad del sitio activo para unirse a sustratos, los grupos funcionales ionizables de cadenas laterales aminoacilo, y cuando están presentes, de grupos prostéticos, pueden contribuir a la catálisis al actuar como ácidos o bases. Se distinguen dos tipos de catálisis acidobásica. **Catálisis específica para ácido o base** se refiere a reacciones para las cuales el único ácido o base *participante* son protones o iones hidróxido. El índice de reacción es sensible a cambios de la concentración de protones, pero *independiente* de las concentraciones de otros ácidos (donadores de protón) o bases (aceptores de protón) presentes en solución o en el sitio activo. Se dice que las reacciones cuyos índices muestran capacidad de respuesta a *todos* los ácidos o bases presentes, están sujetas a **catálisis por ácido general** o por **base general**.

Catálisis por tensión

Las enzimas que catalizan reacciones *líticas*, transformaciones químicas que comprenden el rompimiento de un enlace covalente, típicamente se unen a sus sustratos en una conformación que es un poco desfavorable para el enlace que sufrirá la división. Tal conformación tensa imita la del **intermediario de estado de transición**, especie transitoria que representa la transición o el punto medio en la transformación de sustratos en productos. La tensión resultante estira o deforma el enlace al cual se dirige; esto lo debilita y lo hace más vulnerable a división. Linus Pauling, laureado con el premio Nobel, fue el primero en sugerir una función para la estabilización de estado de transición como un mecanismo general mediante el cual las enzimas aceleran los índices de reacciones químicas. Los químicos a menudo aprovechan el conocimiento del estado de transición de una reacción catalizada por enzima para diseñar y crear inhibidores de enzima más eficaces, llamados **análogos de estado de transición**, como farmacóforos potenciales.

Catálisis covalente

El proceso de **catálisis covalente** comprende la formación de un enlace covalente entre la enzima y uno o más sustratos. La enzima modificada después se convierte en un reactivo. La catálisis covalente introduce una nueva vía de reacción cuya energía de activación es más baja —y, por ende, es más rápida— que la vía de reacción en solución homogénea. Sin embargo, el estado químico modificado de la enzima es transitorio; en el momento en que se completa la reacción, la enzima vuelve a su estado no modificado original. De este modo, su función permanece catalítica. La catálisis covalente se observa con particular frecuencia entre enzimas que catalizan **reacciones de transferencia de grupo**. Los residuos sobre la enzima que participa en la catálisis covalente por lo general son cisteína o serina y, en ocasiones, histidina. La catálisis covalente a menudo sigue un mecanismo de "ping-pong": uno en donde el primer sustrato es unido y su producto se libera antes de la unión del segundo sustrato (**figura 7-4**).

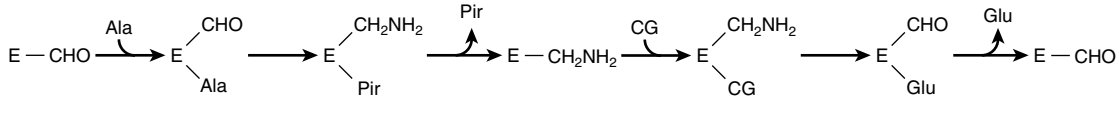


FIGURA 7-4 **Mecanismo de "ping-pong" para transaminación.** E—CHO y E—CH_2NH_2 representan los complejos de enzima-piridoxal fosfato y enzima-piridoxamina, respectivamente. (Ala, alanina; Glu, glutamato; Pir, piruvato; CG, α-cetoglutarato).

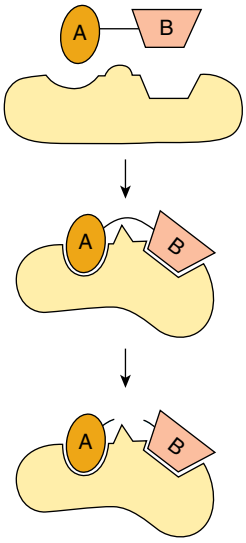


FIGURA 7-5 Representación bidimensional del modelo de adaptación inducida de Koshland, del sitio activo de una liasa. La unión del sustrato A—B induce cambios conformacionales en la enzima que alinea residuos catalíticos que participan en la catálisis y tensa el enlace entre A y B, lo que facilita su división.

LOS SUSTRATOS INDUCEN CAMBIOS CONFORMACIONALES EN ENZIMAS

Si bien el "modelo de cerradura y llave" de Fischer permitió comprender la especificidad extrema de interacciones entre enzima y sustrato, la rigidez implícita del sitio activo de la enzima no explicó los cambios dinámicos que acompañan a la unión de sustrato y la catálisis. Esta desventaja fue abordada por el **modelo de adaptación inducida** de Daniel Koshland, que declara que cuando los sustratos se aproximan y se unen a una enzima, inducen un cambio conformacional, una modificación análoga a colocar una mano (sustrato) dentro de un guante (enzima) (**figura 7-5**). Un corolario es que la enzima induce cambios recíprocos en sus sustratos y aprovecha la energía de unión para facilitar la transformación de sustratos en productos. El modelo de adaptación inducida se ha confirmado de manera amplia por medio de estudios biofísicos de movimiento de enzimas durante unión a sustrato.

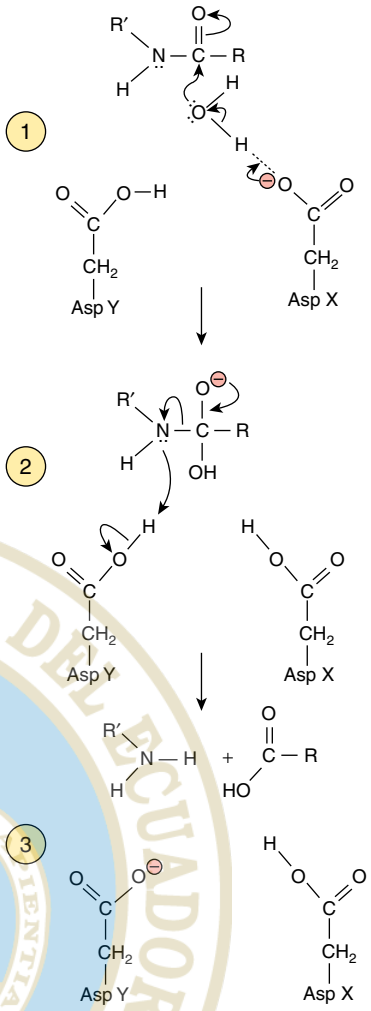


FIGURA 7-6 Mecanismo para catálisis mediante una aspártico proteasa como la proteasa de HIV. Las flechas curvas indican direcciones de movimiento de electrón. ① Aspartato X actúa como una base para activar una molécula de agua al sustraer un protón. ② La molécula de agua activada ataca el enlace peptídico, lo que forma un intermediario tetraédrico transitorio. ③ El aspartato Y actúa como un ácido para facilitar el rompimiento del intermediario tetraédrico y la liberación de los productos de división al donar un protón al grupo amino recién formado. El transbordo subsiguiente del protón sobre Asp X a Asp Y restituye la proteasa a su estado inicial.

LA PROTEASA DEL HIV ILUSTRA LA CATÁLISIS ACIDOBÁSICA

Las enzimas de la **familia de la proteasa aspártica**, que incluye la enzima digestiva pepsina, las catepsinas lisosómicas y la proteasa producida por el virus de inmunodeficiencia humana (HIV), comparten un mecanismo catalítico común que emplea dos residuos aspartilo conservados, que actúan como catalíticos acidobásicos. En la primera etapa de la reacción, un aspartato que está funcionando como una base general (Asp X, **figura 7-6**) extrae un protón de una molécula de agua, lo que la hace más nucleofílica. El nucleófilo resultante después ataca al carbono carbonilo electrofílico del enlace peptídico establecido como objetivo para hidrólisis, lo que forma un **intermediario de estado de transición tetraédrico**. A continuación, un segundo aspartato (Asp Y, figura 7-6) facilita la descomposición de este intermediario tetraédrico al donar un protón al grupo amino producido por la rotura del enlace peptídico. Los dos aspartatos de sitio activo pueden actuar de manera simultánea como una base general o como un ácido general porque su ambiente inmediato favorece la ionización de uno, no así del otro.

LA QUIMOTRIPSINA Y LA FRUCTOSA-2,6-BISFOSFATASA ILUSTRAN LA CATÁLISIS COVALENTE

Quimotripsina

Si bien la catálisis por proteasas aspárticas involucra el ataque hidrolítico directo de agua sobre un enlace peptídico, la catálisis

por la **serina proteasa** quimotripsina comprende la formación previa de un intermediario de enzima acilo covalente. Un residuo serilo conservado, la serina 195, es activado vía las interacciones con histidina 57 y aspartato 102. Muy separados en la estructura primaria, en el sitio activo de la proteína madura estos residuos están dentro de la distancia formadora de enlace de otro. Alineados en el orden Asp 102-His 57-Ser 195, este trío conforma una **"red de transmisión de carga"** que funciona como un **"transbordador de protón"**.

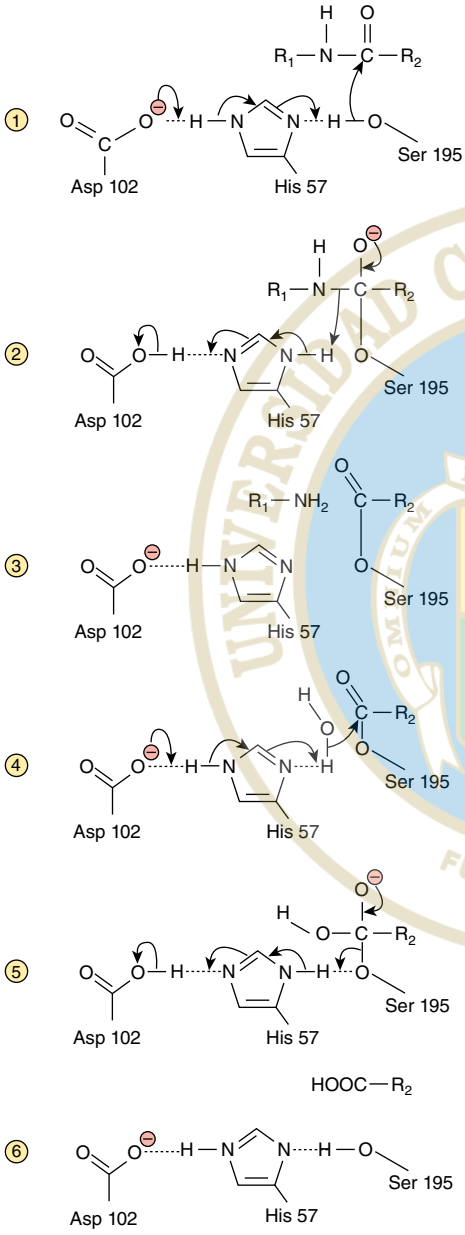


FIGURA 7-7 Catálisis mediante quimotripsina. ① El sistema de transmisión de carga elimina un protón de Ser 195, lo que la hace un nucleófilo más potente. ② La Ser 195 activada ataca el enlace peptídico y forma un intermediario tetraédrico transitorio. ③ La liberación del péptido amino terminal se facilita por donación de un protón al grupo amino recién formado por His 57 del sistema de transmisión de carga, lo que da un intermediario acilo-Ser 195. ④ His 57 y Asp 102 colaboran para activar una molécula de agua, que ataca el acilo-Ser 195, lo que forma un segundo intermediario tetraédrico. ⑤ El sistema de transmisión de carga dona un protón a Ser 195, lo que facilita el rompimiento de intermediario tetraédrico para liberar el péptido carboxilo terminal ⑥.

La unión de sustrato inicia desviaciones de protón que, en efecto, transfieren el protón hidroxilo de Ser 195 a Asp 102 (**figura 7-7**). La nucleofilicidad aumentada del oxígeno serilo facilita su ataque sobre el carbono carbonilo del enlace peptídico del sustrato, lo que forma un **intermediario de acilo-enzima** covalente. El protón en Asp 102 a continuación se transborda a través de His 57 hacia el grupo amino que es liberado cuando el enlace peptídico se divide. La porción del péptido original con un grupo amino libre después deja el sitio activo y es reemplazada por una molécula de agua. La red de transmisión de carga ahora activa la molécula de agua al extraer un protón a través de His 57 hacia Asp 102. El ion hidróxido resultante ataca el intermediario acilo-enzima y un transbordador de protón inverso regresa un protón a Ser 195, lo que restituye su estado original. Si bien se modifica durante el proceso de catálisis, la quimotripsina surge sin cambios en el momento en que se completa la reacción. Las proteasas tripsina y elastasa emplean un mecanismo catalítico similar, pero los números de los residuos en sus transbordadores de protón Ser-His-Asp difieren.

Fructosa-2,6-bisfosfatasa

Es una enzima reguladora de la gluconeogénesis (capítulo 19) y cataliza la liberación hidrolítica del fosfato en el carbono 2 de la fructosa-2,6-bisfosfato. En la **figura 7-8** se ilustran las funciones

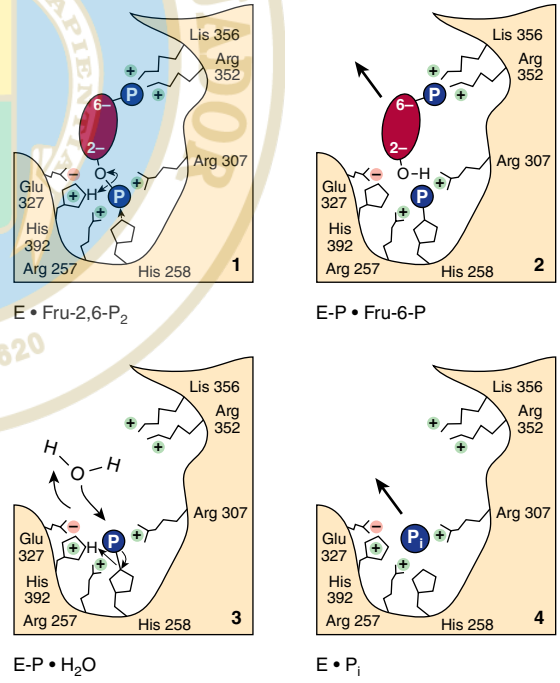


FIGURA 7-8 Catálisis mediante fructosa-2,6-bifosfatasa. 1) Lis 356 y Arg 257, 307 y 352 estabilizan la carga negativa cuádruple del sustrato mediante interacciones carga-carga. Glu 327 estabiliza la carga positiva en His 392. 2) El nucleófilo His 392 ataca el grupo fosforilo C-2 y lo transfiere a His 258, lo que forma un intermediario fosforilo-enzima. La fructosa 6-fosfato ahora abandona la enzima. 3) El ataque nucleofílico por una molécula de agua, posiblemente ayudado por Glu 327 que actúa como una base, forma fosfato inorgánico. 4) Se libera ortofosfato inorgánico a partir de Arg 257 y Arg 307. (Reproducido, con autorización, de Pilkis SJ, *et al.*: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: A metabolic signaling enzyme. Annu Rev Biochem 1995;64:799. © 1995 by Annual Reviews, ww.annualreviews.org).

CUADRO 7-1 Secuencias de aminoácidos en la vecindad de los sitios catalíticos de varias proteasas bovinas

Enzima	Secuencia alrededor de la serina Ⓢ														Secuencia alrededor de la histidina Ⓗ											
Tripsina	D	S	C	Q	D	G	Ⓢ	G	G	P	V	V	C	S	G	K	V	V	S	A	A	Ⓗ	C	Y	K	S	G
Quimotripsina A	S	S	C	M	G	D	Ⓢ	G	G	P	L	V	C	K	K	N	V	V	T	A	A	Ⓗ	G	G	V	T	T
Quimotripsina B	S	S	C	M	G	D	Ⓢ	G	G	P	L	V	C	Q	K	N	V	V	T	A	A	Ⓗ	C	G	V	T	T
Trombina	D	A	C	E	G	D	Ⓢ	G	G	P	F	V	M	K	S	P	V	L	T	A	A	Ⓗ	C	L	L	Y	P

Nota: Las regiones mostradas son las que están a ambos lados de los residuos serilo Ⓢ e histidilo Ⓗ del sitio catalítico.

de siete residuos de sitio activo. La catálisis comprende una "tríada catalítica" de un residuo Glu y dos residuos His, y un intermediario fosfohistidilo covalente.

LOS RESIDUOS CATALÍTICOS ESTÁN MUY CONSERVADOS

Los miembros de una familia de enzimas como las aspártico o serina proteasas emplean un mecanismo similar para catalizar un tipo de reacción común, pero actúan sobre diferentes sustratos. Casi todas las familias de enzimas surgieron por medio de eventos de duplicación de gen que crean una segunda copia del gen que codifica para una enzima particular. Los dos genes —y en consecuencia sus proteínas codificadas— pueden evolucionar entonces de manera independiente y formar **homólogos** divergentes que reconocen diferentes sustratos. El resultado se ilustra por la quimotripsina, que divide enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de aminoácidos hidrofóbicos grandes, y la tripsina, que divide enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de aminoácidos básicos. Se dice que las proteínas que divergieron desde un ancestro común son **homólogas** entre sí. La ascendencia común de enzimas puede inferirse a partir de la presencia de aminoácidos específicos en la misma posición en cada miembro de la familia; se dice que estos residuos son **residuos conservados**. En el **cuadro 7-1** se ilustra la conservación estructural primaria de dos componentes de la red de transmisión de carga para varias serinas proteasas. Entre los residuos más conservados figuran los que participan de manera directa en la catálisis.

LAS ISOZIMAS SON FORMAS DE ENZIMA DISTINTAS QUE CATALIZAN LA MISMA REACCIÓN

Los organismos superiores a menudo elaboran varias versiones de una enzima dada distintas desde el punto de vista físico, cada una de las cuales cataliza la misma reacción. Al igual que los miembros de otras familias de proteína, estos catalíticos de proteína o **isozimas** surgen por medio de duplicación de gen. Si bien las proteasas antes descritas tienen diferentes sustratos, las isozimas pueden poseer diferencias sutiles en propiedades como sensibilidad a factores reguladores particulares (capítulo 9) o afinidad por sustrato (p. ej., hexocinasa y glucocinasa) que las adaptan a tejidos o circunstancias específicos, más que a distintas especificidades de sustrato. Las isozimas que catalizan la reacción idéntica también pueden mejorar la supervivencia al proporcionar una copia de "respaldo" de una enzima esencial.

LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE ENZIMAS FACILITA SU DETECCIÓN

Las cantidades relativamente pequeñas de enzimas presentes en células complican la determinación de su presencia y concentración; sin embargo, la amplificación conferida por su capacidad para transformar con rapidez miles de moléculas de un sustrato específico en producto confiere a cada enzima la capacidad para revelar su presencia. Las valoraciones de la actividad catalítica de enzimas a menudo se usan en laboratorios de investigación y clínicos. En condiciones apropiadas (capítulo 8), el índice de la reacción catalítica que se está monitoreando es proporcional a la cantidad de enzima presente, lo cual permite inferir su concentración.

Enzimología de molécula única

La sensibilidad limitada de las valoraciones enzimáticas tradicionales exige el uso de un grupo grande —o conjunto— de moléculas de enzima para producir cantidades de producto medibles. Los datos obtenidos de este modo reflejan la actividad *promedio* de enzimas individuales a través de múltiples ciclos de catálisis. Avances recientes en **nanotecnología** han hecho posible observar —por lo general mediante microscopia de fluorescencia— eventos catalíticos que implican enzima y molécula de sustrato individuales. En consecuencia, los científicos ahora tienen la posibilidad de medir el índice de eventos catalíticos únicos y, en ocasiones, los pasos individuales en la catálisis por medio de un proceso llamado **enzimología de molécula única**, un ejemplo del cual se presenta en la **figura 7-9**.

El descubrimiento de fármacos requiere valoraciones enzimáticas idóneas para investigación de "alta capacidad de procesamiento"

Las enzimas constituyen una de las clases primarias de biomoléculas dirigidas para la creación de fármacos y otros agentes terapéuticos; por ejemplo, muchos antibióticos inhiben enzimas que son singulares para microbios patógenos. El descubrimiento de nuevos fármacos se facilita mucho cuando es posible valorar un gran número de farmacóforos potenciales de una manera rápida y automatizada, proceso denominado **investigación de alta capacidad de procesamiento** (HTS). En el HTS se aprovechan

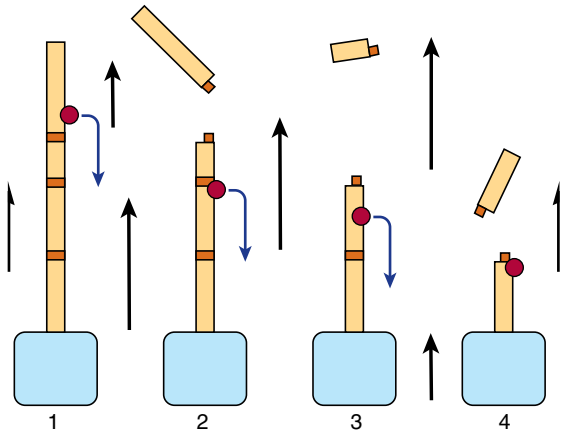


FIGURA 7-9 Observación directa de eventos de división de DNA único catalizados mediante una endonucleasa de restricción. Moléculas de DNA inmovilizadas a cuentas (azul) se colocan en un chorro de amortiguador que fluye (flechas negras), lo que hace que adopten una conformación extendida. La división en uno de los sitios de restricción (anaranjado) por una endonucleasa lleva a un acortamiento de la molécula de DNA, que puede observarse de manera directa en un microscopio porque las bases de nucleótido en el DNA son fluorescentes. Aunque la endonucleasa (rojo) no muestra fluorescencia y, por ende, es invisible, la manera progresiva en la cual se acorta la molécula de DNA (1 → 4) revela que la endonucleasa se une al extremo libre de la molécula de DNA y se mueve a lo largo de ella de un sitio a otro.

avances recientes en robótica, óptica, procesamiento de datos y microfluídica para efectuar y analizar muchos miles de valoraciones simultáneas de la actividad de una enzima dada. En los dispositivos de investigación de alta capacidad de procesamiento de uso más frecuente se emplean volúmenes de 100 μL en placas de plástico con 96, 384 o 1 536 pozos, y equipo por completo automatizado capaz de surtir sustratos, coenzimas, enzimas e inhibidores potenciales en una multiplicidad de combinaciones y concentraciones. La investigación de alta capacidad de procesamiento es ideal para analizar los muchos productos de **química combinacional**, la síntesis simultánea de grandes bibliotecas de compuestos químicos que contienen todas las combinaciones posibles de un conjunto de precursores químicos. Las valoraciones enzimáticas que producen un producto cromogénico o fluorescente son ideales, puesto que los detectores ópticos se elaboran con facilidad mediante procedimientos de ingeniería para permitir el análisis rápido de múltiples muestras, a menudo en tiempo real. Como se explica en el capítulo 8, su principal uso es el análisis de compuestos inhibitorios con potencial final para uso como fármacos.

Inmunoanálisis ligados a enzima

Es factible explotar la sensibilidad de las valoraciones enzimáticas con el fin de detectar proteínas que carecen de actividad catalítica. En el **análisis inmunosorbente ligado a enzima (ELISA)** se usan anticuerpos enlazados de manera covalente a una "enzima reportera" como la fosfatasa alcalina o la peroxidasa de rábano picante cuyos productos se detectan con facilidad, por lo general mediante la absorbancia de luz o por medio de fluorescencia. El suero u otras muestras biológicas que serán analizadas son colocados en placas de microtitulación de plástico, donde las proteínas se adhieren a la superficie de plástico y quedan inmovilizadas. Cualquier plástico expuesto que quede es subsecuentemente "bloqueado" mediante añadir una proteína no antigénica, como albúmina de suero bovino. Entonces se añade una solución de anticuerpo enlazado de manera covalente a una enzima reportera. Los anticuerpos se adhieren al antígeno inmovilizado y quedan inmovilizados. Después se eliminan mediante lavado las moléculas de anticuerpo libres excesivas. A continuación se determinan la presencia y cantidad de anticuerpo unido al añadir el sustrato para la enzima reportera.

Las deshidrogenasas dependientes de NAD(P) son valoradas de manera espectrofotométrica

Las propiedades físico-químicas de los reactivos en una reacción catalizada por enzima dictan las opciones para la valoración de la actividad enzimática. En las valoraciones espectrofotométricas se explota la capacidad de un sustrato o producto para absorber luz. Las coenzimas reducidas NADH y NADPH, escritas como NAD(P)H, absorben luz a una longitud de onda de 340 nm, no así sus formas oxidadas $NAD(P)^+$ (**figura 7-10**). Por ende, cuando el $NAD(P)^+$ se reduce, la absorbancia a 340 nm aumenta en proporción con —y a un índice determinado por— la cantidad de NAD(P)H producida. Por el contrario, para una deshidrogenasa que cataliza la oxidación de NAD(P)H, se observa un decremento de la absorbancia a 340 nm. En cada caso, el índice de cambio de la densidad óptica a 340 nm será proporcional a la cantidad de enzima presente.

Suele ser más difícil de efectuar la valoración de enzimas cuyas reacciones no se acompañan de un cambio de la absorbancia o de la fluorescencia. En ocasiones es posible transformar el producto o el sustrato restante en un compuesto que se detecta con mayor facilidad, aunque antes de la medición el producto de la reacción quizá tenga que separarse de sustrato que no ha reaccionado. Una estrategia alternativa es crear un sustrato sintético cuyo producto absorbe luz o muestra fluorescencia. Por ejemplo, la hidrólisis del enlace fosfoéster en el *p*-nitrofenil fosfato (*p*NPP), una molécula sustrato artificial, es catalizada a una

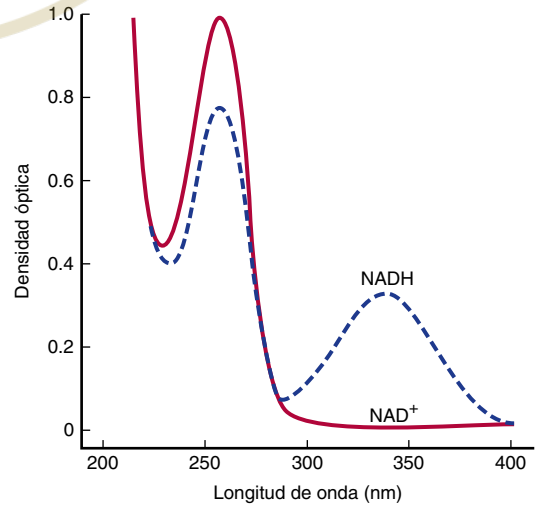


FIGURA 7-10 Espectros de absorción de NAD^+ y NADH. Las densidades son para una solución de 44 mg/L en una célula con una trayectoria de luz de 1 cm. El $NADP^+$ y NADPH tienen espectros análogos a los del NAD^+ y NADH, respectivamente.

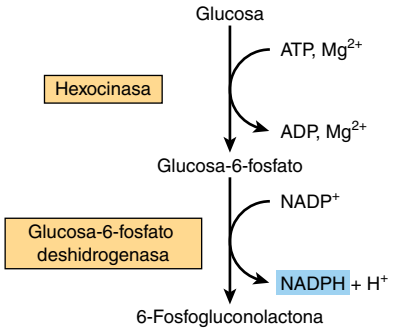


FIGURA 7-11 Valoración enzimática acoplada para la actividad de hexocinasa. La producción de glucosa-6-fosfato mediante la hexocinasa está acoplada a la oxidación de este producto por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en presencia de enzima añadida y $NADP^+$. Cuando hay un exceso de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, el índice de formación de NADPH, que puede medirse a 340 nm, está regido por el índice de formación de glucosa-6-fosfato por la hexocinasa.

tasa medible por muchas fosfatasas, fosfodiesterasas y serina proteasas. Si bien el *p*NPP no absorbe la luz visible, después de su hidrólisis el anión de *p*-nitrofenilato resultante absorbe luz a 419 nm y, así, puede cuantificarse.

Muchas enzimas son valoradas mediante acoplamiento a una deshidrogenasa

Otro método bastante común es emplear una valoración "acoplada" (**figura 7-11**); por lo común una deshidrogenasa cuyo sustrato es el producto de la enzima de interés se añade en exceso catalítico. El índice de aparición o desaparición de NAD(P)H depende entonces del índice de la reacción enzimática a la cual se ha acoplado la deshidrogenasa.

EL ANÁLISIS DE CIERTAS ENZIMAS AYUDA AL DIAGNÓSTICO

El análisis de enzimas en el plasma sanguíneo ha desempeñado una función fundamental en el diagnóstico de varios procesos morbosos. Muchas enzimas son constituyentes funcionales de la sangre; entre algunos ejemplos están seudocolinesterasa, lipoproteína lipasa, así como componentes de la cascada de eventos en la coagulación de la sangre y la disolución de coágulo. Otras enzimas se liberan hacia el plasma después de muerte o lesión celular; si bien estas últimas no desempeñan una función fisiológica en el plasma, pueden servir como **biomarcadores**, moléculas cuya apariencia o concentración son de utilidad en el diagnóstico y el pronóstico de enfermedades y lesiones que afectan tejidos específicos. Después de lesión, la concentración plasmática de una enzima liberada puede aumentar en etapas tempranas o tardías, y declinar de manera rápida o con lentitud. Las proteínas del citoplasma tienden a aparecer con mayor rapidez que las de organelos subcelulares. La rapidez con la cual las enzimas y otras proteínas son eliminadas del plasma varía con su susceptibilidad a proteólisis y permeabilidad a través de los glomérulos renales.

El análisis cuantitativo de la actividad de las enzimas o de otras proteínas liberadas —por lo general en plasma o suero, aunque también en orina o en diversas células— proporciona información respecto al diagnóstico, el pronóstico y la respuesta al tratamiento. En el análisis de la *actividad* enzimática de manera característica se emplean valoraciones cinéticas estándar de índices de reacción inicial. El **cuadro 7-2** lista varias enzimas valiosas en el diagnóstico clínico; sin embargo, estas enzimas no son absolutamente específicas para la enfermedad indicada. Por ejemplo, las concentraciones sanguíneas elevadas en fosfatasa ácida prostática a menudo se relacionan con cáncer prostático, pero también con ciertos otros cánceres y enfermedades no cancerosas. En consecuencia, los datos de la valoración enzimática deben considerarse junto con otros factores recabados por medio de un examen clínico integral. Los factores por considerar en la interpretación de los datos sobre enzimas comprenden la edad del paciente, el sexo, los antecedentes personales no patológicos y patológicos, el posible consumo de fármacos o drogas, así como la sensibilidad y la especificidad diagnóstica de la prueba enzimática.

CUADRO 7-2 Principales enzimas séricas usadas en el diagnóstico clínico

Enzima sérica	Principal uso diagnóstico
Aminotransferasas	
Aspartato aminotransferasa (AST o SGOT)	Infarto de miocardio
Alanina aminotransferasa (ALT o SGPT)	Hepatitis viral
Amilasa	Pancreatitis aguda
Ceruloplasmina	Degeneración hepatolenticular (enfermedad de Wilson)
Creatina cinasa	Trastornos musculares e infarto de miocardio
γ-Glutamil transferasa	Diversas enfermedades hepáticas
Isozima 5 de la lactato deshidrogenasa	Enfermedades hepáticas
Lipasa	Pancreatitis aguda
Fosfatasa ácida	Carcinoma metastásico de la próstata
Fosfatasa alcalina (isozimas)	Diversos trastornos óseos, enfermedades hepáticas obstructivas

Nota: Muchas de las enzimas anteriores no son específicas para la enfermedad listada.

Las enzimas ayudan al diagnóstico de infarto de miocardio (MI)

Una enzima útil para enzimología diagnóstica debe ser hasta cierto punto específica para el tejido u órgano bajo estudio, aparecer en el plasma u otro líquido en un momento útil para el diagnóstico (la "ventana diagnóstica") y prestarse a la valoración automatizada. Las enzimas que se utilizan para confirmar un MI ilustran el concepto de una "ventana diagnóstica" y proporcionan una perspectiva histórica sobre el uso de diferentes enzimas para este propósito.

La detección de una enzima debe ser posible en el transcurso de algunas horas, luego de un MI para confirmar un diagnóstico preliminar y permitir el inicio de terapia apropiada. De este modo, las enzimas que sólo aparecen en el plasma 12 horas o

más después de lesión, tienen utilidad limitada. Las primeras enzimas usadas para diagnosticar MI fueron la aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y lactato deshidrogenasa (LDH). Sin embargo, la AST y la ALT resultaron no ser las idóneas, puesto que aparecen en el plasma con relativa lentitud y no son específicas para el músculo cardiaco. Si bien la lactato deshidrogenasa también se libera con relativa lentitud hacia el plasma, ofreció la ventaja de especificidad hística como una consecuencia de su estructura cuaternaria.

La LDH es una enzima tetramérica que consta de dos tipos de monómeros: H (de *heart* [corazón]) y M (de músculo) que se combinan para dar cinco isozimas de LDH: HHHH (I_1), HHHM (I_2), HHMM (I_3), HMMM (I_4) y MMMM (I_5). Las proporciones relativas de cada subunidad en las células de un órgano particular está determinada por patrones específicos para tejido en la expresión de los genes H y M. La isozima I_1 predomina en el tejido cardíaco, y la isozima I_5, en el hígado. De este modo, cuando la concentración de LDH aumenta en el plasma sanguíneo, la identidad del tejido lesionado puede inferirse a partir de su patrón característico de isozimas de LDH. En el laboratorio clínico, isozimas individuales se pueden separar mediante electroforesis y detectar con una valoración acoplada (**figura 17-12**). Si bien tiene importancia histórica, la valoración de LDH ha quedado reemplazada como un marcador para MI por proteínas que aparecen en el plasma con mayor rapidez que la LDH.

La creatina cinasa (CK) tiene tres isozimas: CK-MM (músculo estriado), CK-BB (cerebro) y CK-MB (corazón y músculo estriado). La CK-MB tiene una ventana diagnóstica útil; aparece en el transcurso de 4 a 6 horas luego de un MI, alcanza un máximo a las 24 horas, y regresa a la basal hacia las 48 a 72 horas. Al igual que para la LDH, las isozimas de CK individuales son separables mediante electroforesis, lo que facilita la detección. La medición de la concentración plasmática de CK se sigue usando para evaluar trastornos del músculo esquelético, como la distrofia muscular de Duchenne. Sin embargo, en la actualidad en casi todos los laboratorios clínicos la medición de la concentración plasmática de troponina ha reemplazado a la CK como el marcador diagnóstico preferido para MI.

Troponinas

La **troponina** es un complejo de tres proteínas comprendidas en la contracción muscular en los *músculos estriado* y *cardíaco*, no así en el *músculo liso* (capítulo 51). La medición inmunológica de las concentraciones plasmáticas de troponinas cardíacas I y T proporciona indicadores sensibles y específicos de daño del músculo cardíaco. Las concentraciones de troponina aumentan 2 a 6 horas después de un MI y permanecen elevadas durante 4 a 10 días. Además del MI, otro tipo de daño del músculo cardíaco también aumenta las concentraciones séricas de troponina. Así que las troponinas cardíacas sirven como un marcador de todo el daño del músculo cardíaco. La búsqueda de marcadores adicionales para enfermedad cardíaca —como albúmina modificada por isquemia y la evaluación simultánea de un espectro de marcadores diagnósticos por medio de proteómica— aún es un área activa de investigación clínica—.

Usos clínicos adicionales de las enzimas

También es factible emplear enzimas en el laboratorio clínico como herramientas para determinar la concentración de metabolitos críticos; por ejemplo, la glucosa oxidasa suele utilizarse para medir la concentración plasmática de glucosa. Cada vez con mayor frecuencia se emplean enzimas como recursos para el tratamiento de lesión y enfermedad. El activador del plasminógeno hístico (tPA) o la estreptocinasa se usan en el tratamiento de MI agudo, mientras que la tripsina ha sido utilizada en el tratamiento de fibrosis quística. La administración por vía intravenosa de glicosilasas producidas con métodos recombinantes se ha aprobado para el tratamiento de varias enfermedades por almacenamiento lisosomal, entre ellas la enfermedad de Gaucher

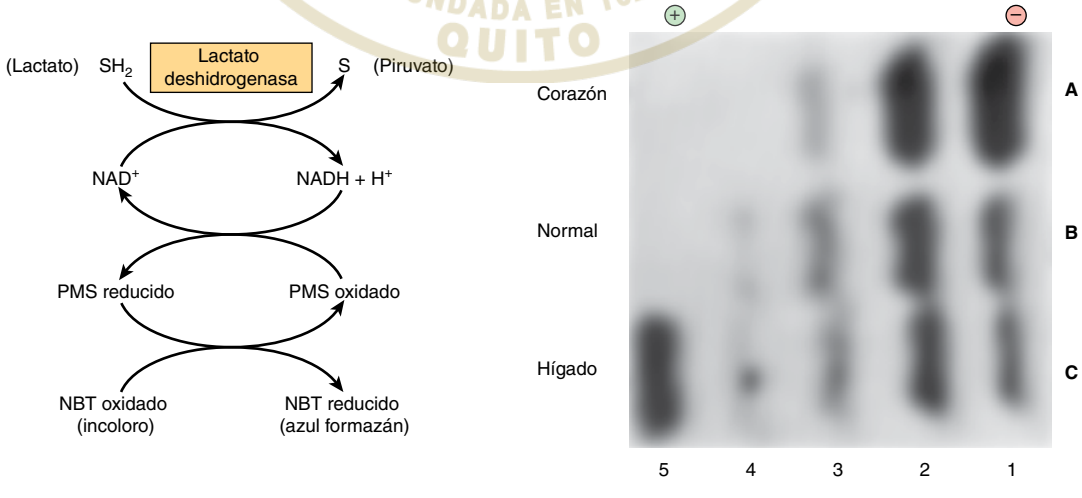


FIGURA 7-12 Modelos normal y patológico de isozimas de lactato deshidrogenasa (LDH) en el suero humano. Las isozimas de LDH en el suero se separaron mediante electroforesis y fueron visualizadas usando el orden de reacción acoplado que se muestra a la izquierda (NBT, nitroazul tetrazolio; PMS, metilsulfato de fenazina). A la derecha se muestra el electroferograma coloreado. El modelo A es suero de un paciente con un infarto de miocardio, B es suero normal y C es suero de un paciente con enfermedad hepática. Los números arábigos denotan isozimas de LDH específicas.

(β-glucosidasa), la enfermedad de Pompe (α-glucosidasa), la enfermedad de Fabry (α-galactosidasa A) y la enfermedad de Sly (β-glucuronidasa).

LAS ENZIMAS FACILITAN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS E INFECCIOSAS

En muchas técnicas diagnósticas se aprovechan la especificidad y eficiencia de las enzimas que actúan sobre oligonucleótidos como el DNA. Las enzimas conocidas como **endonucleasas de restricción**, por ejemplo, dividen DNA bicatenario en sitios especificados por una secuencia de cuatro, seis o más pares de bases llamados **sitios de restricción**. La división de una muestra de DNA con una enzima de restricción produce un grupo característico de fragmentos de DNA de menor tamaño (capítulo 39). Las desviaciones del modelo de producto normal, llamadas **polimorfismos de longitud de fragmento de restricción (RFLP)**, ocurren si una mutación hace a un sitio de restricción irreconocible para su endonucleasa de restricción cognada o, de manera alternativa, genera un nuevo sitio de reconocimiento. Los RFLP en la actualidad se utilizan para facilitar la detección prenatal de diversos trastornos hereditarios, entre ellos rasgo de células falciformes, talasemia β, fenilcetonuria en lactantes y enfermedad de Huntington.

Aplicaciones médicas de la reacción en cadena de la polimerasa

Como se describe en el capítulo 39, la **reacción en cadena de polimerasa (PCR)** emplea una DNA polimerasa termoestable y preparadores oligonucleótido apropiados para producir miles de copias de un segmento definido de DNA a partir de una cantidad diminuta de material inicial. La PCR permite a los científicos médicos, biológicos y forenses detectar y caracterizar DNA que en un inicio está presente a cifras demasiado bajas como para realizar una detección directa. Además de investigar mutaciones genéticas, la PCR puede usarse para detectar e identificar agentes patógenos y parásitos como *Trypanosoma cruzi* —el agente causal de la enfermedad de Chagas— y *Neisseria meningitidis* —el agente causal de la meningitis bacteriana—, por medio de la amplificación selectiva de su DNA.

EL DNA RECOMBINANTE CONSTITUYE UN IMPORTANTE RECURSO PARA ESTUDIAR ENZIMAS

La tecnología de DNA recombinante ha surgido como un recurso importante en el estudio de las enzimas; a fin de examinar la estructura y función de enzimas es necesario contar con muestras muy purificadas de las mismas. El aislamiento de una enzima individual, en particular si está presente en una concentración baja, de entre los miles de proteínas existentes en una célula, en ocasiones es una tarea en extremo difícil. Si el gen que codifica para la enzima de interés ha sido clonado, por lo general es posible producir grandes cantidades de su proteína codificada en *Escherichia coli* o levadura. Sin embargo, no todas las proteínas animales pueden expresarse de forma activa en células microbianas ni los microbios realizan ciertas tareas de procesamiento postraduccional. Debido a ello, un gen puede expresarse en sistemas de células animales en cultivo empleando el vector de expresión baculovirus para transformar células de insecto cultivadas. El capítulo 39 presenta más detalles respecto a las técnicas de DNA recombinante.

Las proteínas de fusión recombinantes se purifican mediante cromatografía de afinidad

La tecnología de DNA recombinante también puede usarse para crear proteínas modificadas que se purifican con facilidad mediante cromatografía de afinidad. El gen de interés se enlaza a una secuencia de oligonucleótido que codifica una extensión carboxilo o amino terminal para la proteína codificada. La proteína modificada resultante, llamada **proteína de fusión**, contiene un dominio hecho a la medida para interactuar con un soporte de afinidad específico. Un método popular es fijar un oligonucleótido que codifica para seis residuos histidina consecutivos. La proteína "marca de His" (o "cola de His") que se expresa se une a soportes cromatográficos que contienen un ion metálico divalente inmovilizado como Ni^{2+} o Cd^{2+}. De manera alternativa, el dominio de unión a sustrato de la glutatión S-transferasa (GST) puede servir como una "marca de GST". La **figura 7-13** ilustra la purificación de una proteína de fusión GST usando un soporte de afinidad que contiene glutatión unido. La mayoría de los dominios de fusión a menudo también codifican para un sitio de división para una proteasa muy específica como la trombina en la región que enlaza las dos porciones de la proteína; esto permite la eliminación del dominio de fusión añadido después de purificación de afinidad.

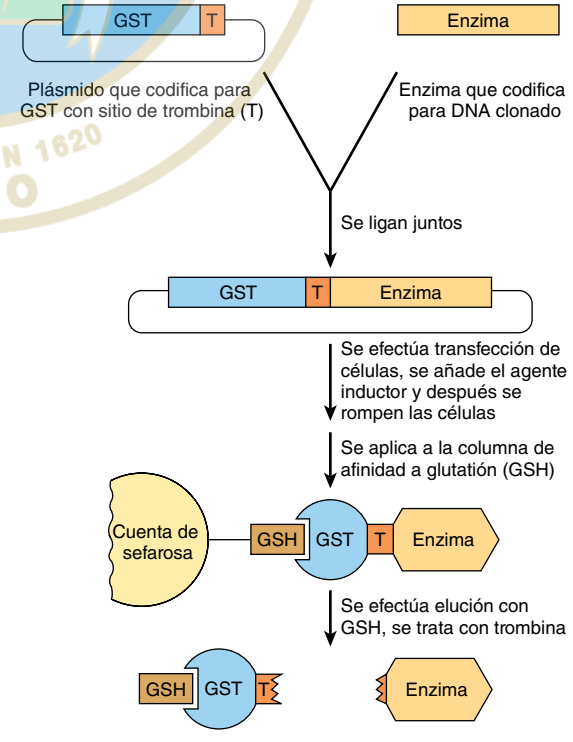


FIGURA 7-13 Uso de proteínas de fusión glutatión S-transferasa (GST) para purificar proteínas recombinantes. (GSH, glutatión).

La mutagénesis dirigida hacia sitio proporciona información mecanicista

Una vez que se ha establecido la capacidad para expresar una proteína a partir de su gen clonado, cabe la posibilidad de emplear **mutagénesis dirigida hacia sitio** para cambiar residuos aminoacilo específicos al alterar sus codones. Usado en combinación con análisis cinéticos y cristalografía con rayos X, este método facilita la identificación de las funciones específicas de residuos aminoacilo dados en la unión a sustrato y la catálisis. Por ejemplo, la inferencia de que un residuo aminoacilo particular funciona como un ácido general puede probarse mediante su reemplazo con un residuo aminoacilo incapaz de donar un protón.

RIBOZIMAS: ARTEFACTOS DEL MUNDO DEL RNA

Cech descubrió la primera molécula de RNA catalítica

La participación de los catalizadores enzimáticos en la maduración postraduccional de ciertas proteínas tiene analogías en el mundo del RNA. Muchas moléculas de RNA pasan por procesamiento en el cual se eliminan segmentos de oligonucleótido, y los segmentos restantes se vuelven a ligar para formar el producto maduro (capítulo 36); sin embargo, no todos estos catalíticos son proteínas. Mientras estaban examinando el procesamiento de moléculas de RNA ribosomal (rRNA) en el protozoario ciliado *Tetrahymena,* Thomas Cech y sus colaboradores observaron, a principios del decenio de 1980-1989, que el procesamiento del rRNA 26S procedió sin contratiempos *in vitro* incluso en *ausencia* total de proteína. La fuente de esta actividad de empalme se rastreó a un segmento catalítico de 413 bp que retuvo su actividad catalítica incluso cuando se replicó en *E. coli* (capítulo 39). Antes de esa época, se había creído que los polinucleótidos sólo sirven como entidades de almacenamiento de información y de transmisión de la misma, y que la catálisis estaba restringida únicamente a proteínas.

Desde entonces se han descubierto varias otras ribozimas. Casi todas catalizan reacciones de desplazamiento nucleofílicas dirigidas a los enlaces fosfodiéster del esqueleto del RNA. En RNA que se dividen por sí mismos, pequeños, como cabeza de martillo (*hammerhead*) o RNA del virus de la hepatitis delta, el nucleófilo atacante es agua, y el resultado es hidrólisis. Para las ribozimas intrón del grupo 1 grandes, el nucleófilo atacante es el 3'-hidroxilo de la ribosa terminal de otro segmento de RNA, y el resultado es una reacción de empalme.

El ribosoma —la ribozima final

El ribosoma fue la primera "máquina molecular" reconocida. El ribosoma, un complejo masivo formado por grandes números de subunidades de proteínas y varias moléculas de RNA ribosomal grandes, desempeña el proceso de importancia vital y muy complejo de sintetizar cadenas polipeptídicas largas siguiendo las instrucciones codificadas en moléculas de RNA mensajero (capítulo 37). Durante muchos años se supuso que los RNA ribosomales desempeñaban un papel estructural pasivo, o que tal vez ayudaban en el reconocimiento de mRNA cognados por medio de un mecanismo de formación de pares de bases. Así, fue un algo sorprendente descubrir que los RNA ribosomales eran tanto necesarios como suficientes para la catálisis.

La hipótesis del mundo del RNA

El descubrimiento de ribozimas tuvo una profunda influencia sobre la teoría evolutiva. Durante muchos años, diversos científicos habían emitido la hipótesis de que los primeros catalíticos biológicos se formaron cuando los aminoácidos contenidos en el caldo primordial mostraron coalescencia para formar las primeras proteínas simples. Cuando quedó de manifiesto que el RNA podía tanto portar información como catalizar reacciones químicas simples, surgió una nueva hipótesis del "mundo del RNA" en la cual el RNA constituyó la primera macromolécula biológica. Finalmente, el DNA surgió como un oligonucleótido con mayor estabilidad química para el almacenamiento de información a largo plazo, mientras que las proteínas, en virtud de su variedad mucho mayor de grupos funcionales químicos, dominaron la catálisis. Si se asume que se formó alguna clase de híbrido de RNA-proteína como un intermediario en la transición desde catalíticos ribonucleótido hacia polipeptídicos, sólo es necesario mirar al ribosoma para encontrar el eslabón perdido probable.

¿Por qué las proteínas no se hicieron cargo de todas las funciones catalíticas? Probablemente, en el caso del ribosoma el proceso fue demasiado complejo y demasiado esencial como para dar gran oportunidad para que posibles competidores prevalecieran. En el caso de los RNA que se dividen por sí mismos pequeños, y los intrones que se empalman por sí mismos, tal vez representen uno de los pocos casos en los cuales la autocatálisis de RNA es más eficiente que el desarrollo de un nuevo catalítico proteínico.

RESUMEN

- Las enzimas son catalíticos eficientes cuya especificidad estricta se extiende a la clase de reacción catalizada, y típicamente a un solo sustrato.
- Los grupos prostéticos orgánicos e inorgánicos, cofactores y coenzimas desempeñan papeles importantes en la catálisis. Las coenzimas, muchas de las cuales son derivados de vitamina B, sirven como "transbordadores" para grupos de uso común, como aminas, electrones y grupos acetilo.
- Durante la catálisis, las enzimas suelen redirigir los cambios conformacionales inducidos por la unión a sustrato para efectuar cambios complementarios en el sustrato que faciliten su transformación en producto.
- Los mecanismos catalíticos empleados por las enzimas comprenden la introducción de tensión, la aproximación de reactantes, la catálisis acidobásica y la catálisis covalente. La proteasa del HIV ilustra la catálisis acidobásica; la quimotripsina y la fructosa-2,6-bifosfatasa ilustran la catálisis covalente.
- Los residuos aminoacilo que participan en la catálisis están altamente conservados entre todas las clases de una enzima dada. La mutagénesis dirigida hacia sitio, que se usa para cambiar residuos que se sospecha que son importantes en la catálisis por la unión a sustrato, proporciona información sobre los mecanismos de acción de enzimas.
- La actividad catalítica de enzimas revela su presencia, facilita su detección y proporciona la base para inmunoensayos ligados

a enzima. Muchas enzimas pueden analizarse por medio de espectrofotometría al acoplarlas a una deshidrogenasa dependiente de $NAD(P)^+$.

- La química combinacional genera extensas bibliotecas de activadores e inhibidores potenciales de enzimas, que pueden probarse mediante investigación de alta capacidad de procesamiento.
- El análisis de enzimas plasmáticas ayuda al diagnóstico de infarto de miocardio, pancreatitis aguda y diversos trastornos óseos y hepáticos, y a establecer el pronóstico de los mismos.
- Las endonucleasas de restricción facilitan el diagnóstico de enfermedades genéticas al revelar polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción, y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplifica el DNA inicialmente presente en cantidades demasiado pequeñas para análisis.
- La fijación de un polihistidilo, glutatión S-transferasa (GST), u otra "marca" al N o C terminal de una proteína recombinante facilita su purificación mediante cromatografía de afinidad sobre un soporte sólido que contiene un ligando inmovilizado, como un catión divalente (p. ej., Ni^{2+}) o GST. A continuación, proteasas específicas pueden eliminar las "marcas" de afinidad y generar la enzima natural.
- No todas las enzimas son proteínas. Se conocen varias ribozimas que pueden cortar los enlaces fosfodiéster del RNA y volver a empalmarlos. En el ribosoma, la catálisis depende principalmente del rRNA y no de los componentes polipeptídicos.

REFERENCIAS

Brik A, Wong C-H: HIV-1 protease: mechanism and drug discovery. Org Biomol Chem 2003;1:5.

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th ed. Elsevier, 2006.

Cornish PV, Ha T: A survey of single-molecule techniques in chemical biology. ACS Chem Biol 2007;2:53.

Doudna JA, Lorsch JR: Ribozyme catalysis: not different, just worse. Nature Struct Biol 2005;12:395.

Frey PA, Hegeman AD: *Enzyme Reaction Mechanisms*. Oxford University Press, 2006.

Geysen HM, Schoenen F, Wagner D, *et al*: Combinatorial compound libraries for drug discovery: an ongoing challenge. Nature Rev Drug Disc 2003;2:222.

Goddard J-P, Reymond J-L: Enzyme assays for high-throughput screening. Curr Opin Biotech 2004;15:314.

Gupta S, de Lemos JA: Use and misuse of cardiac troponins in clinical practice. Prog Cardiovasc Dis 2007;50:151.

Hedstrom L: Serine protease mechanism and specificity. Chem Rev 2002;102:4501.

Knight AE: Single enzyme studies: A historical perspective. Meth Mol Biol 2011;778:1.

Knudsen BR, Jepsen ML, Ho YP: Quantum dot-based biomarkers for diagnosis via enzyme activity measurement. Expert Rev Mol Diagn 2013;13:367.

Melanson SF, Tanasijevic MJ: Laboratory diagnosis of acute myocardial injury. Cardiovascular Pathol 2005;14:156.

Parenti G, Pignata C, Vajro P, *et al*: New strategies for the treatment of lysosomal storage diseases (Review). Int J Mol Med 2013;31:11.

Pereira DA, Williams JA: Origin and evolution of high throughput screening. Br J Pharmacol 2007;152:53.

René AWF, Titman CM, Pratap CV, *et al*: A molecular switch and proton wire synchronize the active sites in thiamine enzymes. Science 2004;306:872.

Schmeing TM, Ramakrishnan V: What recent ribosome structures have revealed about the mechanism of translation. Nature 2009;461:1234.

Silverman RB: *The Organic Chemistry of Enzyme-Catalyzed Reactions*. Academic Press, 2002.

Steussy CN, Critchelow CJ, Schmidt T, *et al*: A novel role for coenzyme A during hydride transfer in 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. Biochemistry 2013;52:5195.

Sundaresan V, Abrol R: Towards a general model for protein-substrate stereoselectivity. Protein Sci 2002;11:1330.

Todd AE, Orengo CA, Thornton JM: Plasticity of enzyme active sites. Trends Biochem Sci 2002;27:419.

Walsh CT: *Enzymatic Reaction Mechanisms*. Freeman, 1979.

CAPÍTULO 8

Enzimas: cinética

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir el alcance y los propósitos generales del estudio de la cinética enzimática.
- Indicar si ΔG, el cambio general de energía libre para una reacción, depende del mecanismo de reacción.
- Indicar si ΔG es una función de las tasas de reacciones.
- Explicar la relación entre K_{eq}, concentraciones de sustratos y productos en equilibrio, y la proporción de las constantes de tasa k_1/k_{-1}.
- Esbozar cómo la temperatura y la concentración de iones hidrógeno, enzima y sustrato afectan la tasa de una reacción catalizada por enzima.
- Utilizar la teoría de la colisión para explicar cómo la temperatura afecta la tasa de una reacción química.
- Definir las condiciones de tasa iniciales y explicar la ventaja que se obtiene por medir la velocidad de una reacción catalizada por enzima en estas condiciones.
- Describir la aplicación de formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten para estimar la K_m y la $V_{máx}$.
- Dar una razón por la cual se usa una forma lineal de la ecuación de Hill para evaluar cómo la unión a sustrato influye sobre la conducta cinética de ciertas enzimas multiméricas.
- Contrastar los efectos de una concentración creciente de sustrato sobre la cinética de inhibición competitiva y no competitiva simple.
- Describir cómo los sustratos se suman a, y los productos parten de, una enzima que sigue un mecanismo de "ping-pong".
- Dar ejemplos de la utilidad de la cinética enzimática para averiguar el modo de acción de fármacos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

A fin de mantener la homeostasis se requiere un conjunto completo y equilibrado de actividades de enzimas. La cinética enzimática, la medición cuantitativa de las tasas de reacciones catalizadas por enzima, y el estudio sistemático de factores que afectan estas tasas, constituye una herramienta fundamental para el análisis, diagnóstico y tratamiento de los desequilibrios enzimáticos que subyacen muchas enfermedades humanas. Por ejemplo, el análisis de la cinética puede revelar el número y el orden de los pasos individuales mediante los cuales las enzimas transforman sustratos en productos, y conjuntamente con mutagénesis dirigida hacia sitio, los análisis cinéticos pueden revelar detalles del mecanismo catalítico de una enzima dada. La aparición de enzimas particulares en la sangre, o un aumento repentino de las concentraciones de las mismas, sirve como un indicador clínico para enfermedades como infarto de miocardio, cáncer de próstata y daño hepático. La participación de las enzimas en casi todos los procesos fisiológicos hace de ellas los mejores blancos para fármacos que curan enfermedad humana o la aminoran. La cinética enzimática aplicada representa la principal herramienta mediante la cual los científicos identifican y caracterizan agentes

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FUNDADA EN 1620
QUITO

terapéuticos que inhiben de manera selectiva las tasas de procesos catalizados por enzima específicos. De este modo, la cinética enzimática desempeña un papel fundamental y crucial en el descubrimiento de fármacos, en la farmacodinámica comparativa, y en la elucidación del modo de acción de fármacos.

LAS REACCIONES QUÍMICAS SE DESCRIBEN USANDO ECUACIONES BALANCEADAS

Una **ecuación química balanceada** lista las especies químicas iniciales (sustratos) presentes, y las nuevas especies químicas (productos) formadas para una reacción química particular, todas en sus proporciones o **estequiometría** correctas. Por ejemplo, en la ecuación balanceada (1) que aparece a continuación se describe la reacción de una molécula, cada una, de sustratos A y B, para formar una molécula, cada una, de productos P y Q:

$$A + B \rightleftarrows P + Q \quad (1)$$

Las dobles flechas indican reversibilidad, propiedad intrínseca de todas las reacciones químicas. De este modo, para la reacción (1), si A y B pueden formar P y Q, estos últimos también pueden formar A y B. Por ende, la designación de un reactivo particular como "sustrato" o "producto" es un poco arbitraria porque los productos para una reacción descrita en una dirección son los sustratos para la reacción inversa. Sin embargo, el término "producto" a menudo se usa para designar los reactivos cuya formación es favorecida desde el punto de vista termodinámico. Las reacciones para las cuales los factores termodinámicos favorecen de manera significativa la formación de los productos hacia los cuales apunta la flecha, a menudo se representan con una flecha única como si fueran "irreversibles":

$$A + B \rightarrow P + Q \quad (2)$$

También se usan flechas unidireccionales para describir reacciones en células vivas en las cuales los productos de la reacción (2) son consumidos de inmediato por una reacción subsiguiente catalizada por enzima o escapan rápidamente de la célula, por ejemplo, el CO_2. Por ende, la eliminación rápida del producto P o Q impide de manera efectiva la reacción inversa, lo que hace a la ecuación (2) **irreversible desde el punto de vista funcional en condiciones fisiológicas.**

LOS CAMBIOS DE LA ENERGÍA LIBRE DETERMINAN LA DIRECCIÓN Y EL ESTADO DE EQUILIBRIO DE REACCIONES QUÍMICAS

El cambio de energía libre de Gibbs ΔG (también llamado la energía libre o energía de Gibbs) describe tanto la *dirección* en la cual tenderá a proceder una reacción química, como las concentraciones de reactivos y productos que estarán presentes en equilibrio. La ΔG para una reacción química es igual a la suma de las energías libres de la formación de los productos de la reacción ΔG_P menos la suma de las energías libres de formación de los sustratos ΔG_S. ΔG^0 denota el cambio de energía libre que acompaña a la transición desde el estado estándar, concentraciones uno molar de sustratos y productos, hasta el equilibrio. Un término bioquímico más útil es $\Delta G^{0'}$, que define el ΔG^0 a un estado estándar de 10^{-7} M protones, pH de 7.0. Si la energía libre de formación de los productos es más baja que la de los sustratos, los signos de ΔG^0 y $\Delta G^{0'}$ serán negativos, lo que indica que la reacción como está escrita se favorece en la dirección de izquierda a derecha; esas reacciones se denominan **espontáneas**. El **signo** y la **magnitud** del cambio de energía libre determinan qué tan lejos procederá la reacción. En la ecuación (3) se ilustra la relación entre la constante de equilibrio K_{eq} y ΔG^0:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \quad (3)$$

donde R es la constante gaseosa (1.98 cal/mol°K u 8.31 J/mol°K) y T es la temperatura absoluta en grados Kelvin. K_{eq} es igual al producto de las concentraciones de los productos de la reacción, cada uno elevado a la potencia de su estequiometría, dividido por el producto de los sustratos, cada uno elevado a la potencia de su estequiometría.

Para la reacción $A + B \rightleftarrows P + Q$

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \quad (4)$$

y para la reacción (5)

$$A + A \rightleftarrows P \quad (5)$$

$$K_{eq} = \frac{[P]}{[A]^2} \quad (6)$$

ΔG^0 puede calcularse a partir de la ecuación (3) si se conocen las concentraciones molares de sustratos y productos presentes en equilibrio. Si ΔG^0 es un número negativo, K_{eq} será mayor que la unidad, y la concentración de productos en equilibrio excederá la de los sustratos. Si ΔG^0 es positiva, K_{eq} será menor que la unidad y se favorecerá la formación de sustratos.

Note que, dado que ΔG^0 está en función exclusivamente de los estados inicial y final de las especies que están reaccionando, sólo puede proporcionar información acerca de la *dirección* y el *estado de equilibrio* de la reacción. ΔG^0 es independiente del **mecanismo** de la reacción y, por ende, no proporciona información acerca de **índices** de reacciones. En consecuencia —y como se explica más adelante—, aunque una reacción puede tener una ΔG^0 o $\Delta G^{0'}$ negativa grande, puede, sin embargo, tener lugar a un índice insignificante.

LOS ÍNDICES DE REACCIONES ESTÁN DETERMINADOS POR SU ENERGÍA DE ACTIVACIÓN

Las reacciones proceden por estados de transición

El concepto de **estado de transición** es fundamental para entender las bases química y termodinámica de la catálisis. En la ecuación (7) se describe una reacción de transferencia de grupo en la

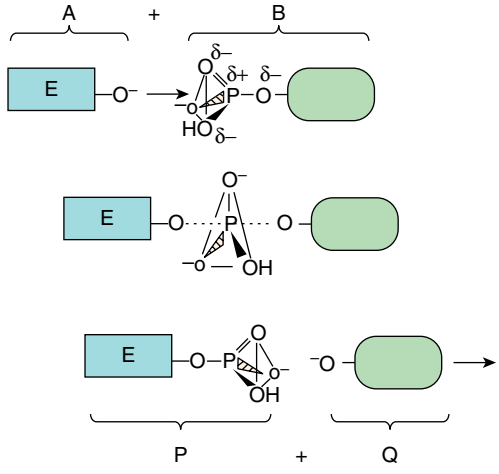


FIGURA 8-1 Formación de un estado de transición intermedio durante una reacción química simple, A + B → P + Q. Se muestran tres etapas de una reacción química en la cual un grupo fosforilo es transferido desde un grupo L (verde) que sale hacia un grupo E (azul). Arriba: el grupo E que entra (A) se acerca al otro reactivo, L-fosfato (B). Note cómo los tres átomos de oxígeno enlazados por las líneas triangulares, y el átomo de fósforo del grupo fosforilo forman una pirámide. Centro: conforme E se acerca al L-fosfato, el nuevo enlace entre E y el grupo fosfato empieza a formarse (línea punteada) a medida que el que enlaza L al grupo fosfato se debilita. Estos enlaces parcialmente formados están indicados por líneas punteadas. Abajo: la formación del nuevo producto, E-fosfato (P), ahora está completa a medida que el grupo L (Q) que sale, egresa. Advierta cómo las características geométricas del grupo fosforilo difieren entre el estado de transición y el sustrato o producto. Note la manera en que el fósforo y los tres átomos de oxígeno que ocupan los cuatro ángulos de una pirámide en el sustrato y el producto se hacen coplanares, como se recalca por el triángulo, en el estado de transición.

cual un grupo E que está entrando desplaza a un grupo L que está saliendo, en un inicio fijo a *R*:

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \qquad (7)$$

El resultado neto de este proceso es transferir el grupo R desde L hacia E. A la mitad del desplazamiento, el enlace entre R y L se ha debilitado pero todavía no se ha roto por completo, y el nuevo enlace entre E y R hasta ahora está formado de manera incompleta. Dicho intermediario transitorio —en el cual no existe sustrato ni producto libre— se denomina el **estado de transición, E···R···L**. Las líneas punteadas representan los enlaces "parciales" que están pasando por formación y rotura. En la **figura 8-1** se proporciona una ilustración más detallada del estado de transición intermedio formado durante la transferencia de un grupo fosforilo.

Cabe considerar que la reacción (7) consta de dos "reacciones parciales"; la primera corresponde a la formación (F) y la segunda a la descomposición (D) subsiguiente del intermediario de estado de transición. Al igual que para todas las reacciones, los cambios característicos de la energía libre, ΔG_F y ΔG_D se relacionan con cada reacción parcial:

$$E + R - L \rightleftarrows E \cdots R \cdots L \quad \Delta G_F \qquad (8)$$

$$E \cdots R \cdots L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G_D \qquad (9)$$

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G = \Delta G_F + \Delta G_D \qquad (10)$$

Para la reacción general (10), ΔG es la suma de ΔG_F y ΔG_D. Al igual que para cualquier ecuación de dos términos, es imposible inferir a partir de ΔG el signo o la magnitud de ΔG_F o ΔG_D.

Muchas reacciones comprenden múltiples estados de transición, cada uno con un cambio relacionado de energía libre. Para estas reacciones, la ΔG general representa la suma de *todos* los cambios de energía libre relacionados con la formación y la descomposición de *todos* los estados de transición. **Por ende, a partir de la ΔG general es imposible inferir el número o el tipo de estados de transición a través de los cuales procede la reacción.** Dicho de otra manera, la termodinámica general no dice nada acerca de la cinética.

La ΔG_F define la energía de activación

Al margen del signo o la magnitud de ΔG, la ΔG_F para la mayoría de reacciones químicas tiene un signo positivo, de modo que la formación de intermediarios de estado de transición requiere superar barreras de energía. Por esta razón, la ΔG_F para llegar a un estado de transición a menudo se denomina la **energía de activación**, E_{act}. La facilidad —y, por ende, la frecuencia— con la cual esta barrera se supera se relaciona de manera inversa con E_{act}. De este modo, los parámetros termodinámicos que determinan la *rapidez* con la cual procede una reacción, son los valores ΔG_F para la formación de los estados de transición a través de los cuales procede la reacción. Para una reacción simple, donde α significa "proporcional a",

$$\text{Rate} \propto e^{-E_{act}/RT} \qquad (11)$$

La energía de activación para la reacción que está procediendo en la dirección opuesta a la trazada es igual a $-\Delta G_D$.

MUCHOS FACTORES AFECTAN EL ÍNDICE DE REACCIÓN

La **teoría cinética** —también llamada la **teoría de la coalición**— de cinética química declara que para que dos moléculas reaccionen, deben: 1) aproximarse dentro de la distancia formadora de enlace de la otra, o "chocar", y 2) poseer suficiente energía cinética para vencer la barrera de energía para alcanzar el estado de transición. Por ende, resulta que cualquier cosa que aumente la *frecuencia* o *energía* de colisión entre sustratos aumentará el índice de la reacción en la cual participan.

Temperatura

Aumentar la temperatura incrementa la energía cinética de las moléculas. Como lo muestra la **figura 8-2**, el número total de moléculas cuya energía cinética excede la barrera de energía E_{act} (barra vertical) para la formación de productos aumenta desde temperaturas bajas (A), pasando por intermedias (B) hasta altas (C). El aumento de la energía cinética de moléculas también aumenta su rapidez de movimiento y, por ende, la frecuencia con la cual chocan. Esta combinación de choques más frecuentes y más energéticos y, por ende, productivos, aumenta el índice de reacción.

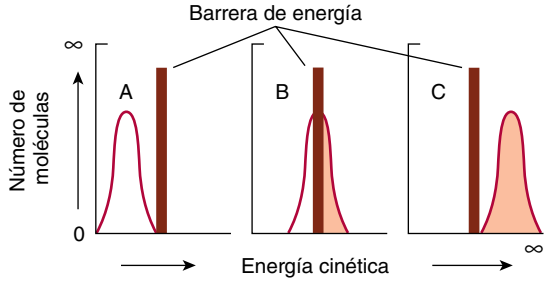


FIGURA 8-2 La barrera de energía para reacciones químicas. (Véase la exposición en el texto).

Concentración de reactivo

La frecuencia con la cual las moléculas chocan es directamente proporcional a sus concentraciones. Para dos moléculas diferentes, A y B, la frecuencia con la cual chocan se duplicará si se duplica la concentración de A o de B. Si las concentraciones tanto de A como de B se duplican, la probabilidad de choque aumentará cuatro veces.

Para una reacción química que procede a temperatura constante, y que comprende una molécula, cada una, de A y B,

$$A + B \rightarrow P \tag{12}$$

la fracción de las moléculas que poseen una energía cinética dada será una constante. El número de moléculas que poseen energía cinética suficiente para superar la barrera de energía de activación será una constante. Por ende, el número de choques con suficiente energía para producir el producto P será directamente proporcional al número de choques entre A y B y, así, y a sus concentraciones molares, denotadas por corchetes.

$$\text{Rate} \propto [A][B] \tag{13}$$

De modo similar, para la reacción representada por

$$A + 2B \rightarrow P \tag{14}$$

que también puede escribirse como

$$A + B + B \rightarrow P \tag{15}$$

El índice de expresión correspondiente es

$$\text{Rate} \propto [A][B][B] \tag{16}$$

o

$$\text{Rate} \propto [A][B]^2 \tag{17}$$

Para el caso general, cuando n moléculas de A reaccionan con m moléculas de B,

$$nA + mB \rightarrow P \tag{18}$$

el índice de expresión es

$$\text{Rate} \propto [A]^n[B]^m \tag{19}$$

Reemplazar el signo de proporcionalidad con signos de igual al introducir una **constante de índice, *k***, característica de la reacción en estudio de las ecuaciones (20) y (21), en las cuales los números 1 y −1 se refieren a las reacciones hacia adelante e inversa, respectivamente.

$$\text{Rate}_1 = k_1[A]^n[B]^m \tag{20}$$

$$\text{Rate}_{-1} = k_{-1}[P] \tag{21}$$

La suma de las proporciones molares de los reactivos define el **orden cinético** de la reacción. Considere la reacción (5). El coeficiente estequiométrico para el reactivo único, A, es 2; por ende, el índice de producción de P es proporcional al cuadrado de [A], y se dice que la reacción es de *segundo orden* respecto al reactivo A. En este caso, la reacción general también es de *segundo orden*. Por ende, k_1 se denomina una *constante de índice de segundo orden.*

En la reacción (12) se describe una reacción de segundo orden simple entre dos reactivos diferentes, A y B. El coeficiente estequiométrico para cada reactivo es 1. Por ende, aunque la reacción es de segundo orden, se dice que es de *primer orden* respecto de A, y de *primer orden* respecto de B.

En el laboratorio, el orden cinético de una reacción respecto a un reactivo particular, al cual se hace referencia como el reactivo variable o sustrato, puede determinarse al mantener la concentración de los otros reactivos a una concentración constante, o fija, en un gran exceso sobre el reactivo variable. En estas *condiciones de seudoprimer orden,* la concentración del o los reactivos "fijos" permanece casi constante. De este modo, el índice de reacción depende de manera exclusiva de la concentración del reactivo variable, a veces también llamado el reactivo limitante. Los conceptos de orden de reacción y condiciones de seudoprimer orden no sólo se aplican a reacciones químicas simples, sino también a reacciones catalizadas por enzimas.

K_{eq} es una proporción de constantes de índice

Si bien todas las reacciones químicas son hasta cierto grado reversibles, en condiciones de equilibrio las concentraciones *generales* de reactivos y productos permanecen constantes. Por ende, en equilibrio, el índice de conversión de sustratos en productos, es igual al índice al cual los productos se convierten en sustratos:

$$\text{Rate}_1 = \text{Rate}_{-1} \tag{22}$$

Por ende,

$$k_1 = [A]^n[B]^m = k_{-1}[P] \tag{23}$$

y

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[P]}{[A]^n[B]^m} \tag{24}$$

La proporción de k_1 a k_{-1} se denomina la constante de equilibrio K_{eq}. Es necesario tener en mente las propiedades importantes que siguen de un sistema en equilibrio:

1. La constante de equilibrio es una proporción de las *constantes de índice* de reacción (no los *índices* de reacción).
2. En equilibrio, los *índices* de reacción (no las *constantes de índice*) de las reacciones hacia adelante y hacia atrás son iguales.

3. El valor numérico de la constante de equilibrio K_{eq} puede calcularse a partir de las concentraciones de sustratos y productos a equilibrio, o a partir de la proporción k_1/k_{-1}.
4. El equilibrio es un estado *dinámico.* Si bien no hay un cambio *neto* de la concentración de sustratos o productos, moléculas de sustrato y de producto individuales continuamente se están interconvirtiendo. La interconvertibilidad puede probarse al añadir a un sistema en equilibrio una cantidad traza de producto radioisotópico, que entonces puede mostrarse que da por resultado la aparición de sustrato radiomarcado.

LA CINÉTICA DE LA CATÁLISIS ENZIMÁTICA

Las enzimas disminuyen la barrera de energía de activación para una reacción

Todas las enzimas aceleran las tasas de reacción al disminuir la ΔG_F para la formación de estados de transición. Sin embargo, pueden diferir en la manera en que esto se logra. Si bien la secuencia de pasos químicos en el sitio activo corre pareja con los que ocurren cuando los sustratos reaccionan en ausencia de un catalítico, **el ambiente del sitio activo disminuye la ΔG_F** al estabilizar los intermediarios del estado de transición. En otras palabras, la enzima puede imaginarse como unida al intermediario de estado de transición (figura 8-1) de manera más estrecha que a sustratos o productos. Como se explica en el capítulo 7, la estabilización puede comprender: 1) grupos acidobásicos colocados de manera idónea para transferir protones hacia o desde el intermediario de estado de transición, 2) grupos cargados o iones metálicos colocados de manera idónea, que estabilizan cargas que se están formando, o 3) la imposición de tensión estérica sobre sustratos de modo que su forma se aproxima a la del estado de transición. La proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (figura 7-6) ilustra la catálisis por una enzima que disminuye la barrera de activación al estabilizar un intermediario de estado de transición.

La catálisis por enzimas que procede por medio de un mecanismo de reacción *singular* típicamente ocurre cuando el intermediario de estado de transición forma un enlace covalente con la enzima **(catálisis covalente)**. El mecanismo catalítico de la serina proteasa quimotripsina (figura 7-7) ilustra la manera en la cual una enzima utiliza catálisis covalente para proporcionar una vía de reacción única que posee un más favorable E_{act}.

LAS ENZIMAS NO AFECTAN LA K_{EQ}

Si bien las enzimas pueden pasar por modificaciones transitorias durante el proceso de catálisis, siempre salen sin cambios cuando se completa la reacción. **Por ende, la presencia de una enzima no tiene efecto sobre la ΔG^0 para la reacción *general,*** que está en función sólo de los **estados inicial y final** de los reactivos. En la ecuación 25 se muestra la relación entre la constante de equilibrio para una reacción y el cambio de energía libre estándar para esa reacción:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \qquad (25)$$

Este principio quizá se ilustra con mayor facilidad al incluir la presencia de la enzima (Enz) en el cálculo de la constante de equilibrio para una reacción catalizada por enzima:

$$A + B + Enz \rightleftarrows P + Q + Enz \qquad (26)$$

Dado que la enzima a ambos lados de las dobles flechas está presente en igual cantidad y forma idéntica, la expresión para la constante de equilibrio,

$$K_{eq} = \frac{[P][Q][Enz]}{[A][B][Enz]} \qquad (27)$$

reduce a una idéntica a la que procede para la reacción en ausencia de la enzima:

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \qquad (28)$$

Por ende, las enzimas carecen de efecto sobre K_{eq}.

MÚLTIPLES FACTORES INFLUYEN SOBRE LOS ÍNDICES DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA

Temperatura

El aumento de la temperatura incrementa el índice de reacciones tanto no catalizadas como catalizadas por enzima al aumentar la energía cinética y la frecuencia de choque de las moléculas que están reaccionando. Sin embargo, la energía calorífica también aumenta la flexibilidad conformacional de la enzima hasta un punto que excede la barrera de energía para alterar las interacciones no covalentes que mantienen su estructura tridimensional. La cadena polipeptídica empieza entonces a desdoblarse, o **desnaturalizarse**, con una pérdida acompañante de la actividad catalítica. El rango de temperatura en el cual una enzima mantiene una conformación estable, competente desde el punto de vista catalítico, depende de —y, por lo general, excede de manera moderada— la temperatura normal de las células en las cuales reside. Las enzimas de humanos por lo general muestran estabilidad a temperaturas de hasta 40 a 55 °C. En contraste, las enzimas de los microorganismos termofílicos que residen en manantiales calientes volcánicos u orificios hidrotérmicos submarinos, pueden ser estables hasta 100 °C o incluso más.

El **coeficiente de temperatura (Q_{10})** es el factor por el cual el índice de un proceso biológico aumenta para un incremento de 10 °C de temperatura. Para las temperaturas en las cuales las enzimas son estables, los índices de casi todos los procesos biológicos típicamente se duplican para un aumento de temperatura de 10 °C ($Q_{10} = 2$). Los cambios de los índices de reacciones catalizadas por enzima que acompañan a un aumento o disminución de la temperatura corporal constituyen una característica de supervivencia prominente para formas de vida "de sangre fría" como lagartos o peces, cuya temperatura corporal está dictada por el ambiente externo. Sin embargo, para mamíferos y otros organismos homeotérmicos, los cambios de los índices de reac-

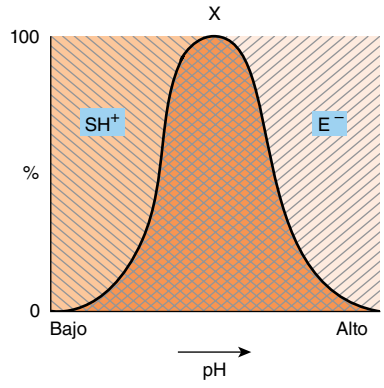


FIGURA 8-3 Efecto del pH sobre la actividad de enzima. Considere, por ejemplo, una enzima con carga negativa (E^-) que se une a un sustrato que tiene carga positiva (SH^+). Se muestra la proporción (%) de SH^+ [\\\] y de E^- [///] como una función del pH. Sólo en el área cuadriculada tanto la enzima como el sustrato portan una carga apropiada.

ción de enzimas con la temperatura sólo asumen importancia fisiológica en circunstancias como fiebre o hipotermia.

Concentración de ion hidrógeno

El índice de casi todas las reacciones catalizadas por enzima muestra una dependencia importante de la concentración de ion hidrógeno. Casi todas las enzimas intracelulares muestran actividad óptima a valores de pH entre 5 y 9. La relación entre actividad y concentración de ion hidrógeno (**figura 8-3**) refleja el equilibrio entre la desnaturalización de enzima a pH alto o bajo, y los efectos sobre el estado cargado de la enzima, los sustratos o ambos. Para enzimas cuyo mecanismo comprende catálisis acidobásica, los residuos comprendidos deben estar en el estado de protonación apropiado para que la reacción proceda. La unión y el reconocimiento de moléculas de sustrato con grupos disociables típicamente también comprenden la formación de puentes salinos con la enzima. Los grupos cargados más frecuentes son grupos carboxilato (negativos) y aminas protonadas (positivos). La ganancia o pérdida de grupos cargados cruciales afecta de manera adversa la unión a sustrato y, así, retrasará o suprimirá la catálisis.

LAS VALORACIONES DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA POR LO GENERAL MIDEN LA VELOCIDAD INICIAL

En casi todas las mediciones de los índices de reacciones catalizadas por enzima se emplean periodos hasta cierto punto breves, condiciones que se aproximan a las **condiciones de índice inicial**. En estas condiciones, sólo se acumulan trazas de producto, lo que hace insignificante al índice de la reacción inversa. De este modo, la **velocidad inicial (v_i)** de la reacción es en esencia la del índice de reacción hacia adelante. En las valoraciones de actividad enzimática casi siempre se emplea un exceso molar grande (10^3 a 10^6) de sustrato sobre enzima. En estas condiciones, v_i es proporcional a la concentración de enzima, es decir, de seudoprimer orden con respecto a la enzima. Por ende, la medición de la velocidad inicial permite estimar la cantidad de enzima presente en una muestra biológica.

LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO AFECTA EL ÍNDICE DE REACCIÓN

En el texto que sigue, las reacciones enzimáticas se tratan como si sólo tuvieran un sustrato único y un producto único. Para enzimas con múltiples sustratos, los principios que se comentan a continuación se aplican con igual validez. Más aún, al emplear condiciones de seudoprimer orden (véase antes), los científicos pueden estudiar la dependencia del índice de reacción en un reactivo individual por medio de la selección apropiada de sustratos fijos y variables. En otras palabras, en condiciones de seudoprimer orden, la conducta de una enzima con múltiples sustratos imitará a la de una que cuenta sólo con un solo sustrato. Sin embargo, en estas circunstancias, la constante de índice observada estará en función de la constante de índice de k_1 para la reacción, así como la concentración del (o los) sustrato(s) fijo(s).

Para una enzima típica, a medida que la concentración de sustrato aumenta, v_i se incrementa hasta que alcanza un valor máximo $V_{máx}$ (**figura 8-4**). Cuando los aumentos adicionales de la concentración de sustrato no aumentan más la v_i, se dice que la enzima está "saturada" con sustrato. Note que la forma de la curva que relaciona la actividad con la concentración de sustrato (figura 8-4) es *hiperbólica*. A cualquier constante dada, sólo las moléculas de sustrato que se combinan con la enzima como un complejo de enzima-sustrato (ES) pueden transformarse en producto. Ya que la constante de equilibrio para la formación del complejo de enzima-sustrato no es infinitamente grande, sólo una fracción de la enzima puede estar presente como un complejo ES, aun cuando el sustrato está presente en exceso (puntos A y B de la **figura 8-5**); por tanto, de los puntos A o B, aumentar o disminuir [S] aumentará o disminuirá el número de complejos ES con un cambio correspondiente de v_i. En el punto C (figura 8-5), en esencia toda la enzima está presente como el complejo ES. Dado que no queda enzima libre disponible para formar ES, los aumentos adicionales de [S] no pueden aumentar el índice de la reacción. **En estas condiciones de saturación, la v_i depende sólo de —y, de este modo, está limitada por— la rapidez con la cual el producto se disocia de la enzima de modo que logre combinarse con más sustrato.**

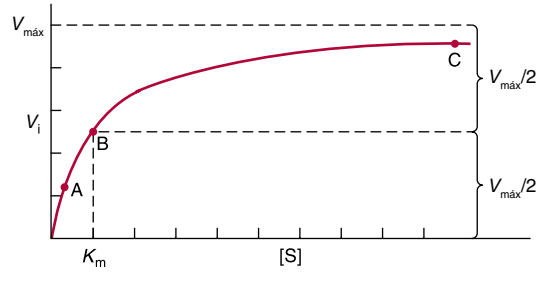


FIGURA 8-4 Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad inicial de una reacción catalizada por enzima.

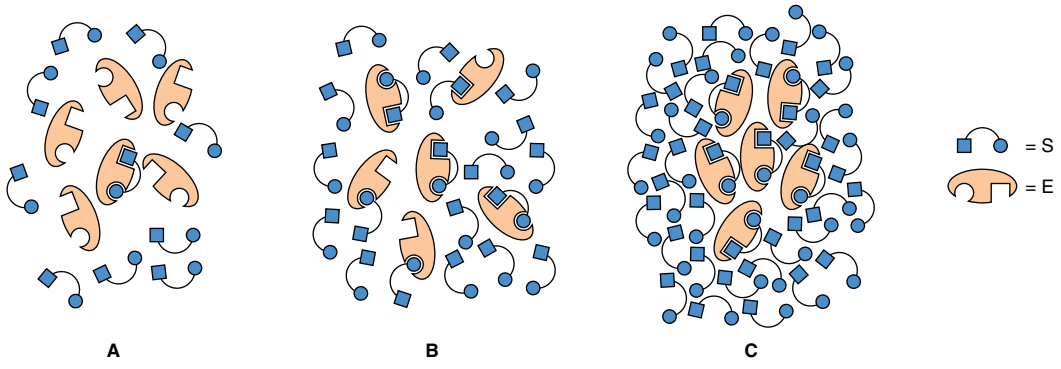


FIGURA 8-5 **Representación de una enzima en la presencia de una concentración de sustrato que está por debajo de K_m (A), a una concentración igual a K_m (B), y a una concentración bastante por arriba de K_m (C).** Los puntos A, B y C corresponden a esos puntos en la figura 8-4.

LAS ECUACIONES DE MICHAELIS-MENTEN Y DE HILL MODELAN LOS EFECTOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO

La ecuación de Michaelis-Menten

La ecuación de Michaelis-Menten (29) ilustra en términos matemáticos la relación entre la velocidad de reacción inicial v_i y la concentración de sustrato [S], que se muestra de manera gráfica en la figura 8-4:

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \tag{29}$$

La constante K_m de Michaelis es la concentración de sustrato a la cual v_i es la mitad de la velocidad máxima ($V_{máx}/2$) alcanzable a una concentración particular de enzima. De este modo, K_m tiene las dimensiones de la concentración de sustrato. La dependencia de la velocidad de reacción inicial de [S] y K_m puede ilustrarse al evaluar la ecuación de Michaelis-Menten en tres condiciones.

1. Cuando [S] es mucho menor que K_m (punto A en las figuras 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es en esencia igual a la K_m. El reemplazo de K_m + [S] con K_m reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{K_m} \approx \left(\frac{V_{máx}}{K_m}\right)[S] \tag{30}$$

donde ≈ significa "aproximadamente igual a". Dado que tanto $V_{máx}$ como K_m son constantes, su proporción es una constante. En otras palabras, cuando [S] está muy por debajo de K_m, v_i es proporcional a k[S]. Por ende, la velocidad de reacción inicial es directamente proporcional a [S].

2. Cuando [S] es mucho mayor que K_m (punto C en las figuras 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es en esencia igual a [S]. Reemplazar K_m + [S] por [S] reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{[S]} \approx V_{máx} \tag{31}$$

De este modo, cuando [S] excede con mucho a K_m, la velocidad de reacción es máxima ($V_{máx}$) y no está afectada por aumentos adicionales de la concentración de sustrato.

3. Cuando [S] = K_m (punto B en las figuras 8-4 y 8-5):

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{máx}[S]}{2[S]} = \frac{V_{máx}}{2} \tag{32}$$

La ecuación (32) declara que cuando [S] es igual a K_m, la velocidad inicial es de la mitad del máximo. La ecuación (32) también revela que K_m es —y puede determinarse la manera experimental a partir de— la concentración de sustrato a la cual la velocidad inicial es de la mitad del máximo.

Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten se usa para determinar K_m y $V_{máx}$

La medición directa del valor numérico de $V_{máx}$ y, por consiguiente, el cálculo de K_m, a menudo requiere concentraciones altas poco prácticas de sustrato para alcanzar condiciones de saturación. Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten evita esta dificultad y permite extrapolar $V_{máx}$ y K_m desde de datos de velocidad inicial obtenidos a concentraciones de sustrato menores que las que producen saturación. Se empieza con la ecuación (29),

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \tag{29}$$

se invierte

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{máx}[S]} \tag{33}$$

se factoriza

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{máx}[S]} + \frac{[S]}{V_{máx}[S]} \tag{34}$$

y se simplifica

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{máx}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{máx}} \tag{35}$$

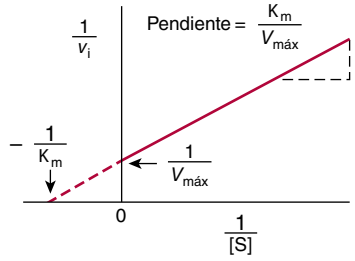


FIGURA 8-6 Gráfico del doble recíproco o de Lineweaver-Burk de $1/v_i$ en contraposición con 1/[S] usado para evaluar la K_m y $V_{máx}$.

La ecuación (35) es la ecuación para una línea recta $y = ax + b$, donde $y = 1/v_i$ y $x = 1/[S]$. Un gráfico de $1/v_i$ en el eje *y,* expresado como una función de 1/[S] en el eje *x,* da una línea recta cuya intersección en el eje *y* se define como $1/V_{máx}$ y la pendiente se define como $K_m/V_{máx}$. Ese gráfico se conoce como **gráfico del doble recíproco** o **de Lineweaver-Burk** (**figura 8-6**). Establecer el término *y* de la ecuación (36) igual a cero y resolver para *x,* revela que la intersección *x* es $-1/K_m$.

$$0 = ax + b;\ \text{por lo tanto}\ x = \frac{-b}{a} = \frac{-1}{K_m} \qquad (36)$$

La K_m puede calcularse a partir de la pendiente y la intersección *y,* pero quizá se calcula más fácilmente a partir de la intersección *x* negativa.

La principal virtud del gráfico de Lineweaver-Burk reside en la facilidad con la cual puede usarse para determinar el mecanismo cinético de un inhibidor de enzima (véase más adelante). Sin embargo, al usar un gráfico doble recíproco para determinar constantes cinéticas es importante evitar la introducción de sesgo por la agrupación de datos a valores bajos de 1/[S]. Este sesgo puede evitarse con facilidad en el laboratorio como sigue: se prepara una solución de sustrato cuya dilución hacia una valoración producirá la concentración deseada máxima del sustrato. Ahora se preparan diluciones de la solución madre por factores de 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, etc. Los datos generados usando volúmenes iguales de estas diluciones caerán entonces en el eje 1/[S] a intervalos igualmente espaciados de 1, 2, 3, 4, 5, etc. También puede usarse un gráfico del recíproco único como el gráfico de Eadie-Hofstee (v_i vs. $v_i/[S]$) o el de Hanes-Woolf ($[S]/v_i$ vs. [S]) para minimizar la agrupación de datos.

La constante catalítica, k_{cat}

Es factible usar varios parámetros para comparar la actividad relativa de diferentes enzimas o de distintas preparaciones de la misma enzima. La actividad de preparaciones de enzima impuras por lo general se expresa como *actividad específica* ($V_{máx}$ dividida por la concentración de proteína). Para una enzima homogénea es posible calcular su *número de recambio* ($V_{máx}$ dividida por los mol de enzima presentes). Sin embargo, si se conoce el número de sitios activos presentes, la actividad catalítica de una enzima homogénea se expresa mejor como su *constante catalítica,* k_{cat} ($V_{máx}$ dividida por el número de sitios activos, S_t).

$$k_{cat} = \frac{V_{máx}}{S_t} \qquad (37)$$

Dado que las unidades de concentración se anulan, las unidades de k_{cat} son tiempo recíproco.

Eficiencia catalítica, k_{cat}/K_m

¿Mediante qué medida se deben cuantificar y comparar la eficiencia de enzimas diferentes, sustratos diferentes para una enzima dada, y la eficiencia con la cual una enzima cataliza una reacción en las direcciones hacia adelante y hacia atrás? Si bien la capacidad máxima de una enzima dada para convertir sustrato en producto es importante, los beneficios de una k_{cat} alta sólo pueden obtenerse si la K_m es suficientemente baja. De este modo, la *eficiencia catalítica* de enzimas se expresa mejor en términos de la proporción de estas dos constantes cinéticas, k_{cat}/K_m.

Para ciertas enzimas, una vez que el sustrato se une al sitio activo, se convierte en producto y se libera con tanta rapidez como para hacer a estos eventos efectivamente instantáneos. Para estos catalíticos excepcionalmente eficientes, el paso limitante es la formación del complejo ES. Se dice que esas enzimas están *limitadas por difusión,* o que son perfectas desde el punto de vista catalítico, puesto que el índice de catálisis más rápido posible está determinado por el índice al cual las moléculas se mueven o difunden a través de la solución. Los ejemplos de enzimas para las cuales k_{cat}/K_m se aproxima al límite de difusión de $10^8 - 10^9\ M^{-1}s^{-1}$ incluyen la triosafosfato isomerasa, anhidrasa carbónica, acetilcolinesterasa y adenosina desaminasa.

En células vivas, el montaje de enzimas que catalizan reacciones sucesivas hacia complejos multiméricos puede evitar las limitaciones impuestas por la difusión. Las relaciones geométricas de las enzimas en estos complejos son tales que los sustratos y productos no se difunden hacia la solución de volumen sino hasta que se completa el último paso de la secuencia de pasos catalíticos. La ácido graso sintetasa extiende este concepto un paso más allá al fijar de manera covalente la cadena de ácido graso sustrato en crecimiento a una cadena de biotina que rota de un sitio activo a otro dentro del complejo hasta que se completa la síntesis de una molécula de ácido palmítico (capítulo 23).

La K_m puede aproximar una constante de unión

La afinidad de una enzima por su sustrato es la inversa de la constante de disociación K_d para la disociación del complejo de enzima-sustrato ES.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \qquad (38)$$

$$K_d = \frac{k_{-1}}{k_1} \qquad (39)$$

Dicho de otra manera, mientras *menor* es la tendencia a *disociarse* de la enzima y su sustrato, *mayor* es la afinidad de la enzima por su sustrato. Si bien la constante de Michaelis K_m a menudo aproxima la constante de disociación K_d, esto de ningún modo siempre es así. Para una reacción catalizada por enzima típica,

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} E + P \qquad (40)$$

el valor de [S] que da $v_i = V_{máx}/2$ es

$$[S] = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \qquad (41)$$

Cuando $k_{-1} >> k_2$, entonces

$$k_{-1} + k_2 \approx k_{-1} \tag{42}$$

y

$$[S] \approx \frac{k_1}{k_{-1}} = K_d \tag{43}$$

Por ende, $1/K_m$ sólo aproxima $1/K_d$ en condiciones en las cuales la asociación y disociación del complejo ES son rápidas en comparación con la catálisis. Para las muchas reacciones catalizadas por enzima para las cuales $k_{-1} + k_2$ **no** es aproximadamente igual a k_{-1}, $1/K_m$ subestimará $1/K_d$.

La ecuación de Hill describe la conducta de enzimas que muestran unión cooperativa de sustrato

Si bien casi todas las enzimas despliegan la **cinética de saturación** simple descrita en la figura 8-4, y se describen de manera adecuada mediante la expresión de Michaelis-Menten, algunas se unen a sus sustratos de una manera **cooperativa**, análoga a la unión de oxígeno por la hemoglobina (capítulo 6). La conducta cooperativa es una propiedad exclusiva de enzimas multiméricas que unen sustrato en múltiples sitios.

Para enzimas que despliegan cooperación positiva en la unión de sustrato, la forma de la curva que relaciona los cambios en v_i con los cambios en [S] es sigmoidea (**figura 8-7**). Ni la expresión de Michaelis-Menten ni sus gráficos derivados pueden usarse para evaluar cinética cooperativa. Por ende, los enzimólogos emplean una representación gráfica de la **ecuación de Hill** que en su origen fue obtenida para describir la unión cooperativa de O_2 por la hemoglobina. La ecuación (44) representa la ecuación de Hill dispuesta en una forma que predice una línea recta, donde k' es una constante compleja:

$$\frac{\log v_i}{V_{máx} - v_i} = n \log[S] - \log k' \tag{44}$$

La ecuación (44) declara que cuando [S] es bajo en comparación con k', la velocidad de reacción inicial aumenta como la enésima potencia de [S].

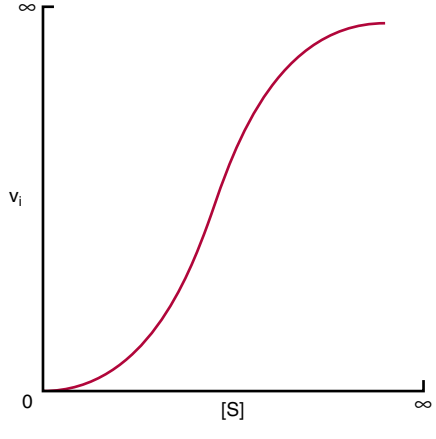


FIGURA 8-7 **Representación de cinética de saturación de sustrato sigmoidea.**

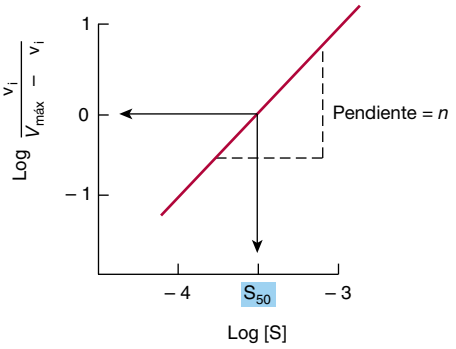


FIGURA 8-8 **Representación gráfica de una forma lineal de la ecuación de Hill usada para evaluar S_{50}, la concentración de sustrato que produce la mitad de la velocidad máxima, y el grado de cooperación *n*.**

Un gráfico de $\log v_i/(V_{máx} - v_i)$ contra log[S] da una línea recta (**figura 8-8**), donde la pendiente de la línea ***n*** es el **coeficiente de Hill**, y un parámetro empírico cuyo valor está en función del número, la clase y la fuerza de las interacciones de los sitios de unión a sustrato múltiples sobre la enzima. Cuando $n = 1$, todos los sitios de unión se comportan de manera independiente, y se observa conducta cinética de Michaelis-Menten simple. Si n es de más de 1, se dice que la enzima muestra cooperación positiva. La unión de sustrato a un sitio aumenta entonces la afinidad de los sitios restantes para unión a sulfato adicional. Mientras mayor es el valor para n, más alto es el grado de cooperación, y más sigmoideo será el gráfico de v_i contra [S]. Una perpendicular trazada desde el punto donde el término y log $v_i/(V_{máx} - v_i)$ es cero interseca el eje x en una concentración de sustrato llamada S_{50}, la concentración de sustrato que da por resultado la mitad de la velocidad máxima. De este modo, S_{50} es análoga a la P_{50} para la unión de oxígeno a hemoglobina (capítulo 6).

EL ANÁLISIS CINÉTICO DISTINGUE ENTRE INHIBICIÓN COMPETITIVA Y NO COMPETITIVA

Los inhibidores de las actividades catalíticas de enzimas proporcionan tanto agentes farmacológicos como recursos de investigación para estudiar el mecanismo de acción de las enzimas. La fuerza de la interacción entre un inhibidor y una enzima depende de las fuerzas importantes en la estructura de proteína y la unión de ligando (enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de Van der Waals; capítulo 5). Los inhibidores pueden clasificarse con base en su sitio de acción en la enzima, en si producen modificación química de la enzima o en los parámetros de cinética sobre los cuales influyen. Los compuestos que imitan el estado de transición de una reacción catalizada por enzima (análogos de estado de transición) o que aprovechan la maquinaria catalítica de una enzima (inhibidores basados en mecanismo) pueden ser inhibidores en particular potentes. Desde el punto de vista cinético, se distinguen dos clases de inhibidores con base en si el aumento de la concentración de sustrato supera o no la inhibición.

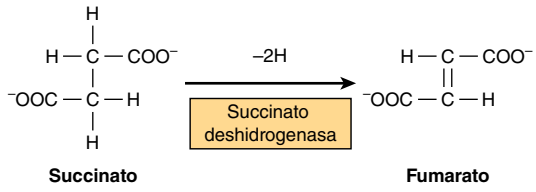


FIGURA 8-9 **Reacción de succinato deshidrogenasa.**

Los inhibidores competitivos típicamente semejan sustratos

Los efectos de los inhibidores competitivos pueden superarse al aumentar la concentración de sustrato. Con mayor frecuencia, la inhibición competitiva del inhibidor **(I)** se une a la porción de unión a sustrato del sitio activo, lo que bloquea el acceso por el sustrato. Por ende, las estructuras de casi todos los inhibidores competitivos clásicos tienden a asemejarse a las estructuras de un sustrato y, así, se llaman **análogos de sustrato**. La inhibición de la enzima succinato deshidrogenasa por el malonato ilustra la inhibición competitiva por un análogo de sustrato. La succinato deshidrogenasa cataliza la eliminación de un átomo de hidrógeno de cada uno de los dos carbonos metileno del succinato (**figura 8-9**). Tanto el succinato como su análogo estructural malonato ($^{-}OOC—CH_2—COO^{-}$) pueden unirse al sitio activo de la succinato deshidrogenasa, lo que forma un complejo ES o uno EI, respectivamente. Sin embargo, dado que el malonato sólo contiene un átomo de metileno, no puede pasar por deshidrogenación. La formación y disociación del complejo EI es un proceso dinámico descrito por

$$E - I \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} E + I \qquad (45)$$

para la cual la constante de equilibrio K_i es

$$K_i = \frac{[E][I]}{[E-I]} = \frac{k_1}{k_{-1}} \qquad (46)$$

En efecto, un **inhibidor competitivo actúa al disminuir el número de moléculas de enzima libres disponibles para unión a sustrato, esto es, para formar ES y, así, finalmente para formar producto**, como se describe a continuación:

Un inhibidor competitivo y sustrato ejercen efectos recíprocos sobre la concentración de los complejos EI y ES. Dado que la formación de complejos ES elimina enzima libre disponible para combinarse con el inhibidor, el aumento de [S] *disminuye* la concentración del complejo EI y *aumenta* la velocidad de reacción. El grado al cual [S] debe aumentarse para superar por completo la inhibición depende de la concentración del inhibidor presente, su afinidad por la enzima, K_i, y la afinidad, K_m, de la enzima por su sustrato.

Los gráficos del doble recíproco facilitan la evaluación de inhibidores

Los gráficos del doble recíproco distinguen entre inhibidores competitivos y no competitivos, y simplifican la evaluación de constantes de inhibición. v_i se determina a varias concentraciones de sustrato tanto en presencia como en ausencia de inhibidor.

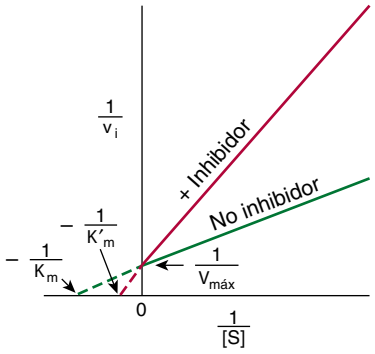


FIGURA 8-10 **Gráfico de Lineweaver-Burk de inhibición competitiva simple.** Note la completa distensión de inhibición a [S] alta (esto es, 1/[S] baja).

Para la inhibición competitiva clásica, las líneas que conectan los puntos experimentales convergen en el eje *y* (**figura 8-10**). Dado que la intersección *y* es igual a $1/V_{máx}$, este modelo indica que **cuando 1/[S] se aproxima a 0, v_i es independiente de la presencia de inhibidor**. Sin embargo, note que la intersección en el eje *x* no varía con la concentración del *inhibidor* y que puesto que $-1/K'$ es de menor tamaño que $1/K_m$, K'_m (la "K_m aparente"), se hace más grande en presencia de concentraciones cada vez mayores del inhibidor. De este modo, **un inhibidor competitivo no tiene efecto sobre $V_{máx}$ pero aumenta K'_m, la K_m aparente para el sustrato**. Para la inhibición competitiva simple, la intersección en el eje *x* es

$$x = \frac{-1}{K_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \qquad (47)$$

Una vez que K_m se ha determinado en ausencia de inhibidor, K_i puede calcularse a partir de la ecuación (47). Los valores de K_i se usan para comparar diferentes inhibidores de la misma enzima. Mientras más bajo es el valor para K_i, más eficaz es el inhibidor. Por ejemplo, los fármacos estatina que actúan como inhibidores competitivos de la HMG-CoA reductasa (capítulo 26) tienen valores de K_i de varios órdenes de magnitud más bajos que la K_m para el sustrato HMG-CoA.

Los inhibidores no competitivos simples disminuyen $V_{máx}$ pero no afectan K_m

En la inhibición no competitiva estricta, la unión del inhibidor no afecta la unión de sustrato; por ende, es factible la formación de complejos tanto EI como EIS. Sin embargo, si bien el complejo inhibidor de enzima aún puede unirse a sustrato, su eficiencia para transformar sustrato en producto, reflejada por $V_{máx}$, está disminuida. Los inhibidores no competitivos unen enzimas en sitios distintos del sitio de unión a sustrato y por lo general muestran poca o ninguna semejanza estructural con el sustrato.

Para la inhibición no competitiva simple, E y EI poseen afinidad idéntica por el sustrato, y el complejo EIS genera producto a un índice insignificante (**figura 8-11**). La inhibición no competitiva más compleja ocurre cuando la unión del inhibidor *afecta* la afinidad aparente de la enzima por el sustrato, lo que hace que las líneas se intersequen en el tercer o cuarto cuadrante de un

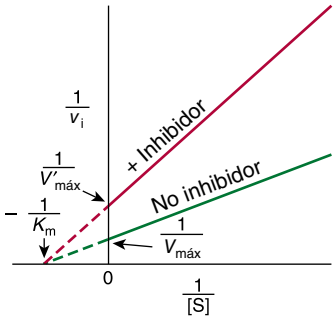


FIGURA 8-11 **Gráfico de Lineweaver-Burk para inhibición no competitiva simple**.

gráfico del doble recíproco (que no se muestra). Si bien ciertos inhibidores muestran características de una mezcla de inhibición competitiva y no competitiva, la evaluación de estos inhibidores va más allá del objetivo de este capítulo.

Gráfico de Dixon

A veces se emplea como una alternativa para el gráfico de Lineweaver-Burk, para determinar constantes de inhibición. La velocidad inicial (v_i) se mide a varias concentraciones de inhibidor, pero a una concentración fija de sustrato (S). Para un inhibidor competitivo o no competitivo simple, un gráfico de $1/v_i$ contra la concentración del inhibidor [I] da una línea recta. El experimento se repite a diferentes concentraciones fijas de sustratos. El conjunto de líneas resultantes interseca a la izquierda del eje *y*. Para inhibición *competitiva*, una perpendicular trazada hacia el eje *x* desde el punto de intersección de las líneas da $-K_i$ (**figura 18-12**, arriba). Para inhibición *no competitiva* la intersección del eje *x* es $-K_i$ (**figura 8-12**, abajo). En las publicaciones farmacéuticas a menudo se emplean gráficos de Dixon para ilustrar la potencia comparativa de inhibidores competitivos.

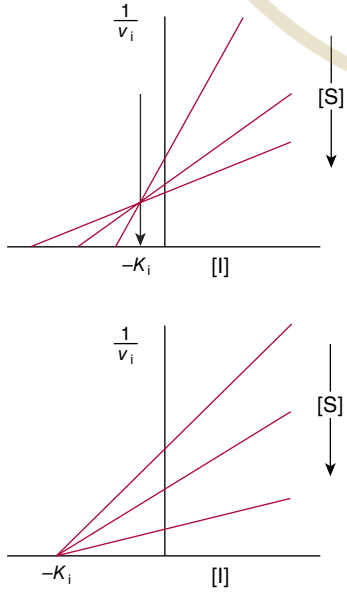


FIGURA 8-12 **Aplicaciones de los gráficos de Dixon**. **Arriba**: inhibición competitiva, estimación de K_i. **Abajo**: inhibición no competitiva, estimación de K_i.

IC_{50}

Una alternativa menos rigurosa para K_i como una medida de la potencia inhibidora es la concentración de inhibidor que produce inhibición de 50%, $\mathbf{IC_{50}}$. A diferencia de la constante de disociación de equilibrio K_i, el valor numérico de IC_{50} varía en función de las circunstancias específicas de la concentración de sustratos, etc., bajo la cual se determina.

Inhibidores estrechamente unidos

Algunos inhibidores se unen a enzimas con afinidad tan alta, $K_i \leq 10^{-9}$ M, que la concentración de inhibidor requerida para medir K_i cae por debajo de la concentración de enzima típicamente presente en una valoración. En estas circunstancias, una fracción importante del inhibidor total puede estar presente como un complejo EI. De ser así, esto viola la suposición, implícita en cinética de estado estable clásica, de que la concentración de inhibidor libre es independiente de la concentración de enzima. El análisis cinético de estos inhibidores muy unidos requiere ecuaciones cinéticas especializadas que incorporan la concentración de enzima para estimar K_i o IC_{50}, y para distinguir entre inhibidores competitivos y no competitivos estrechamente unidos.

Los inhibidores irreversibles "envenenan" enzimas

En los ejemplos anteriores, los inhibidores forman un complejo disociable, dinámico, con la enzima; por ende, la enzima por completo activa puede recuperarse con tan sólo eliminar el inhibidor del medio circundante. Sin embargo, varios otros inhibidores actúan de manera irreversible al producir modificación química de la enzima. Estas modificaciones por lo general comprenden hacer o romper enlaces covalentes con residuos aminoacilo esenciales para la unión a sustrato, catálisis o mantenimiento de la conformación funcional de la enzima. Dado que estos cambios covalentes son hasta cierto punto estables, una enzima que ha sido "envenenada" por un inhibidor irreversible, como un átomo de metal pesado o un reactivo acilante, permanece inhibida incluso después de eliminar del medio circundante el inhibidor que resta.

Inhibición basada en mecanismo

Los inhibidores "basados en mecanismo" o "suicidas" son análogos de sustrato especializados que contienen un grupo químico que puede transformarse mediante la maquinaria catalítica de la enzima blanco. Después de la unión al sitio activo, la catálisis por la enzima genera un grupo muy reactivo que forma un enlace covalente con **un residuo esencial desde el punto de vista catalítico, y bloquea la función del mismo**. La especificidad y la persistencia de inhibidores suicidas, que son tanto específicos para enzima como no reactivos fuera de los confines del sitio activo de la enzima, los hacen promisorios para la creación de fármacos específicos para enzima. El análisis cinético de inhibidores suicidas está más allá del objetivo de este capítulo. Ni el método de Lineweaver-Burk ni el de Dixon son aplicables porque los inhibidores suicidas violan una condición limítrofe clave común a ambos métodos, a saber, que la actividad de la enzima no disminuye en el transcurso de la valoración.

CASI TODAS LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA COMPRENDEN DOS O MÁS SUSTRATOS

Si bien muchas enzimas tienen un sustrato único, muchas otras tienen dos —y a veces más— sustratos y productos. Los principios fundamentales, ya comentados, si bien se ilustran para enzimas con un sustrato único, también aplican a enzimas con múltiples sustratos. Sin embargo, las expresiones matemáticas utilizadas para evaluar reacciones de múltiples sustratos son complejas. Aun cuando un análisis detallado del rango completo de reacciones de múltiples sustratos va más allá del objetivo de este capítulo, a continuación se consideran algunos aspectos comunes de conducta cinética para reacciones de dos sustratos y dos productos (llamadas reacciones "Bi-Bi").

Reacciones secuenciales o de desplazamiento único

En **reacciones secuenciales**, ambos sustratos deben combinarse con la enzima para formar un complejo ternario antes de que pueda proceder la catálisis (**figura 8-13**, arriba). Las reacciones secuenciales a veces reciben el nombre de reacciones de desplazamiento único porque el grupo que se está transfiriendo por lo general pasa de manera directa, en un solo paso, desde un sustrato hacia el otro. Las reacciones Bi-Bi secuenciales pueden distinguirse más con base en si los dos sustratos se agregan en un orden **al azar** o en uno **forzoso**. Para reacciones de orden al azar, el sustrato A o el B puede combinarse primero con la enzima para formar un complejo EA o uno EB (**figura 8-13**, centro). En reacciones de orden forzoso, A debe combinarse primero con E antes de que B pueda combinarse con el complejo EA. Una explicación por la cual algunas enzimas emplean mecanismos de orden forzoso puede encontrarse en la hipótesis de la adaptación inducida de Koshland: la adición de A induce un cambio de conformación en la enzima que alinea residuos que reconocen B y se unen al mismo.

Reacciones de "ping-pong"

El término **"ping-pong"** aplica a mecanismos en los cuales uno o más productos son liberados desde la enzima antes de que se hayan añadido todos los sustratos. Las reacciones de "ping-pong" comprenden catálisis covalente y una forma transitoria, modificada, de la enzima (figura 7-4). Las reacciones Bi-Bi de "ping-pong" son **reacciones de doble desplazamiento**. El grupo que se transfiere primero es desplazado del sustrato A por la enzima para formar productos P y una forma modificada de la enzima (F). La transferencia de grupo subsiguiente desde F hacia el segundo sustrato B, que forma el producto Q y regenera E, constituye el segundo desplazamiento (**figura 8-13**, abajo).

Casi todas las reacciones Bi-Bi se conforman a la cinética de Michaelis-Menten

Casi todas las reacciones Bi-Bi se conforman a una forma un poco más compleja de cinética de Michaelis-Menten en la cual

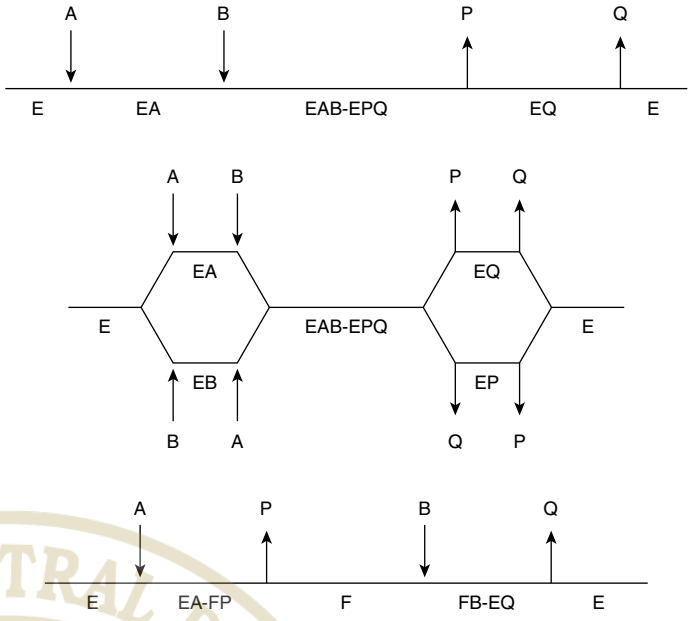


FIGURA 8-13 **Representaciones de tres clases de mecanismos de reacción Bi-Bi.** Las líneas horizontales representan la enzima. Las flechas indican la adición de sustratos y la salida de productos. **Arriba**: una reacción Bi-Bi ordenada, característica de muchas oxidorreductasas dependientes de NAD(P)H. **Centro**: una reacción Bi-Bi al azar, característica de muchas cinasas y algunas deshidrogenasas. **Abajo**: una reacción de "ping-pong", característica de aminotransferasas y serina proteasas.

$V_{máx}$ se refiere al índice de reacción que se alcanza cuando ambos sustratos están presentes a concentraciones que producen saturación. Cada sustrato tiene su propio valor K_m característico, que corresponde a la concentración que da la mitad de la velocidad máxima cuando el segundo sustrato está presente a concentraciones que producen saturación. Al igual que para las reacciones de un solo sustrato, pueden usarse gráficos del doble recíproco para determinar $V_{máx}$ y K_m. v_i se mide como una función de la concentración de un sustrato (el sustrato variable), mientras que la concentración del otro sustrato (el sustrato fijo) se mantiene constante. Si las líneas obtenidas para varias concentraciones de sustrato fijo se grafican en el mismo gráfico, es posible distinguir entre un mecanismo "ping-pong", que da líneas paralelas (**figura 18-4**), y un mecanismo secuencial, que da un modelo de líneas que se intersecan (no mostrado).

Los **estudios de inhibición del producto** se usan para complementar análisis cinéticos y distinguir entre reacciones Bi-Bi ordenadas y al azar. Por ejemplo, en una reacción Bi-Bi ordenada al azar, cada producto será un inhibidor competitivo en ausencia de sus coproductos al margen de cuál sustrato es designado como el sustrato variable. Sin embargo, para un mecanismo secuencial (figura 8-13, arriba), sólo el producto Q dará el modelo indicativo de inhibición competitiva cuando A es el sustrato variable, mientras que sólo el producto P producirá este modelo con B como el sustrato variable. Otras combinaciones de inhibidor del producto y sustrato variable producirán formas de inhibición no competitiva compleja.

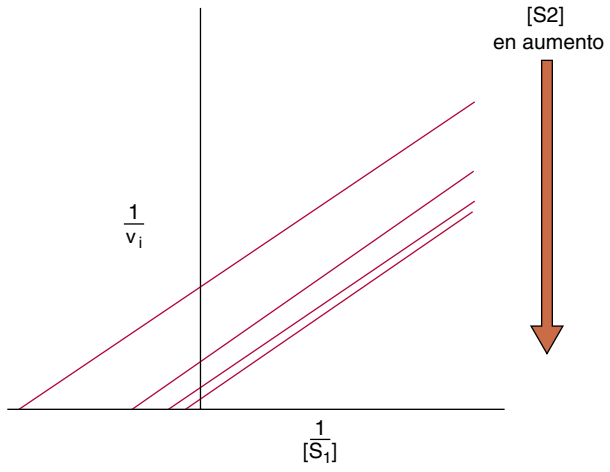


FIGURA 8-14 Gráfico de Lineweaver-Burk para una reacción de "ping-pong" de dos sustratos. El aumento de la concentración de un sustrato (S_1) mientras se mantiene constante la del otro sustrato (S_2) altera las intersecciones tanto *x* como *y*, pero no la pendiente.

EL CONOCIMIENTO DE LA CINÉTICA, EL MECANISMO Y LA INHIBICIÓN DE ENZIMAS, AYUDA A LA CREACIÓN DE FÁRMACOS

Muchos fármacos actúan como inhibidores de enzimas

El objetivo de la farmacología es identificar agentes que pueden

1. Destruir o alterar el crecimiento, la invasividad o el desarrollo de agentes patógenos invasores.
2. Estimular mecanismos de defensa endógenos.
3. Suspender u obstaculizar procesos moleculares aberrantes desencadenados por estímulos genéticos, ambientales o biológicos, con perturbación mínima de las funciones celulares normales del huésped.

En virtud de sus diversas funciones fisiológicas y alto grado de selectividad de sustrato, las enzimas constituyen blancos naturales para la creación de fármacos que son tanto potentes como específicos. Los fármacos estatina, por ejemplo, disminuyen la producción de colesterol al inhibir la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (capítulo 26), mientras que la emtricitabina y el tenofovir disoproxil fumarato bloquean la replicación del HIV al inhibir una inverso transcriptasa viral (capítulo 34). La farmacoterapia de la hipertensión a menudo incluye la administración de un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, lo que disminuye la concentración de angiotensina II, un vasoconstrictor (capítulo 42).

La cinética enzimática define condiciones de investigación apropiadas

La cinética enzimática tiene un papel crucial en el descubrimiento de fármacos. El conocimiento de la conducta cinética de la enzima de interés se necesita, ante todo, para seleccionar condiciones de valoración apropiadas que detectan con facilidad la presencia de un inhibidor. La concentración de sustrato, por ejemplo, debe ajustarse de modo que se genere suficiente producto para permitir la detección fácil de actividad de la enzima sin que sea tan alta que enmascare la presencia de un inhibidor. En segundo lugar, la cinética enzimática proporciona el medio para cuantificar y comparar la potencia de diferentes inhibidores y definir su modo de acción. Los inhibidores no competitivos son en particular deseables, porque —en contraste con los competitivos— sus efectos nunca pueden superarse por completo mediante incrementos de la concentración de sustrato.

Casi todos los fármacos se metabolizan *in vivo*

El desarrollo de fármacos a menudo comprende más que la evaluación cinética de la interacción de inhibidores con la enzima blanco. Para minimizar su dosificación efectiva y, por ende, el potencial de efectos secundarios perjudiciales, un fármaco necesita ser resistente a la degradación por enzimas presentes en el paciente o en el agente patógeno, un proceso llamado **metabolismo de fármaco**. Por ejemplo, la penicilina y otros antibióticos β-lactámicos bloquean la síntesis de la pared celular en bacterias al envenenar de manera irreversible la enzima alanil alanina carboxipeptidasa-transpeptidasa. Sin embargo, muchas bacterias producen β-lactamasas que hidrolizan la función beta-lactámica crucial en la penicilina y fármacos relacionados. Una estrategia para superar la resistencia a antibiótico resultante es administrar de manera simultánea un inhibidor de beta-lactamasa y un antibiótico beta-lactámico.

También se requiere a veces de transformación metabólica para convertir un precursor farmacológico inactivo, o **profármaco**, en su forma biológicamente activa (capítulo 47). El ácido 2'-desoxi-5-fluorouridílico, un potente inhibidor de la timidilato sintasa, un blanco común de la quimioterapia de cáncer, se produce a partir de 5- fluorouracilo por medio de una serie de transformaciones enzimáticas catalizadas por una fosforribosil transferasa y las enzimas de la vía de salvamento de desoxirribonucleósido (capítulo 33). El diseño y la administración eficaces de profármacos requieren conocimiento de la cinética y de los mecanismos de las enzimas encargadas de transformarlos en sus formas biológicamente activas.

RESUMEN

- El estudio de la cinética enzimática —los factores que afectan los índices de reacciones catalizadas por enzima— revela los pasos individuales mediante los que las enzimas transforman sustratos en productos.
- La ΔG, el cambio general de la energía libre para una reacción, es independiente del mecanismo de reacción, y no proporciona información respecto a los *índices* de reacciones.
- La K_{eq} es una proporción de *constantes de índice* de reacción, se calcula a partir de las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio, o a partir de la proporción k_1/k_{-1}. Las enzimas no afectan la K_{eq}.
- Las reacciones proceden por medio de estados de transición en los cuales ΔG_F es la energía de activación. La temperatura, la concentración de ion hidrógeno, la concentración de enzima, la concentración de sustrato, y los inhibidores, afectan los índices de reacciones catalizadas por enzima.

- En la medición del índice de una reacción catalizada por enzima por lo general se emplean condiciones de índice iniciales, para las cuales la ausencia virtual de producto impide de forma efectiva que ocurra la reacción inversa.
- Las formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten simplifican la determinación de K_m y $V_{máx}$.
- Una forma lineal de la ecuación de Hill se usa para evaluar la cinética de unión a sustrato cooperativa mostrada por algunas enzimas multiméricas. La pendiente *n*, el coeficiente de Hill, refleja el número, la naturaleza y la fuerza de las interacciones de los sitios de unión a sustrato. Un valor de *n* de más de 1 indica cooperación positiva.
- Los efectos de inhibidores competitivos simples, que por lo general semejan sustratos, se superan al aumentar la concentración del sustrato. Los inhibidores no competitivos simples disminuyen la $V_{máx}$ pero no afectan la K_m.
- Para inhibidores competitivos y no competitivos simples, la constante inhibitoria K_i es igual a la constante de disociación de equilibrio para el complejo de enzima-inhibidor relevante. Un término más simple y menos riguroso para evaluar la eficacia de un inhibidor es la IC_{50}, la concentración del inhibidor que produce inhibición de 50% en las circunstancias particulares del experimento.
- Los sustratos pueden añadirse en un orden al azar (cualquier sustrato puede combinarse primero con la enzima) y en un orden forzoso (el sustrato A debe unirse antes que el sustrato B).
- En reacciones de "ping-pong", uno o más productos se liberan a partir de la enzima antes de que se hayan añadido todos los sustratos.
- La cinética enzimática aplicada facilita la identificación, caracterización y elucidación del modo de acción de fármacos que inhiben de manera selectiva enzimas específicas.
- La cinética enzimática desempeña un papel fundamental en el análisis y la optimización del metabolismo de fármacos, un determinante clave de la eficacia de estos últimos.

REFERENCIAS

Cook PF, Cleland WW: *Enzyme Kinetics and Mechanism*. Garland Science, 2007.

Copeland RA: *Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery*. John Wiley & Sons, 2005.

Cornish-Bowden A: *Fundamentals of Enzyme Kinetics*. Portland Press Ltd, 2004.

Dixon M: The determination of enzyme inhibitor constants. Biochem J 1953;55:170.

Dixon M: The graphical determination of K_m and K_i. Biochem J 1972;129:197.

Fersht A: *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*. Freeman, 1999.

Fraser CM, Rappuoli R: Application of microbial genomic science to advanced therapeutics. Annu Rev Med 2005;56:459.

Henderson PJF: A linear equation that describes the steady-state kinetics of enzymes and subcellular particles interacting with tightly bound inhibitors. Biochem J 1972;127:321.

Schramm, VL: Enzymatic transition-state theory and transition-state analogue design. J Biol Chem 2007;282:28297.

Schultz AR: *Enzyme Kinetics: From Diastase to Multi-enzyme Systems*. Cambridge University Press, 1994.

Segel IH: *Enzyme Kinetics*. Wiley Interscience, 1975.

Wlodawer A: Rational approach to AIDS drug design through structural biology. Annu Rev Med 2002;53:595.

CAPÍTULO 9

Enzimas: regulación de actividades

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar el concepto de la homeostasis de todo el cuerpo, y su respuesta a fluctuaciones en el ambiente externo.
- Comentar por qué las concentraciones celulares de sustratos para casi todas las enzimas tienden a estar cerca de la K_m.
- Listar múltiples mecanismos mediante los cuales se logra el control activo del flujo de metabolitos.
- Describir las ventajas de que ciertas enzimas se elaboren como proenzimas.
- Ilustrar los eventos fisiológicos que desencadenan la conversión de una proenzima en la enzima activa correspondiente.
- Describir los cambios estructurales típicos que acompañan a la conversión de una proenzima en la enzima activa.
- Describir las características básicas de un sitio de unión típico para metabolitos y segundos mensajeros que regulan la actividad catalítica de ciertas enzimas.
- Indicar dos maneras generales en las cuales un efector alostérico puede modificar la actividad catalítica.
- Esbozar las funciones de las proteína cinasas, proteína fosfatasas, y de mensajeros reguladores y hormonales y segundos mensajeros en el inicio de un proceso metabólico.
- Explicar cómo los requerimientos de sustrato de lisina aminotransferasas y sirtuínas pueden desencadenar cambios del grado de acetilación de lisina de enzimas metabólicas.
- Describir dos maneras mediante las cuales pueden construirse redes reguladoras en células.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El fisiólogo del siglo XIX Claude Bernard enunció la base conceptual para la regulación metabólica. Observó que los organismos vivos muestran respuesta de maneras que son apropiadas desde los puntos de vista cuantitativo y temporal para permitirles sobrevivir a los múltiples desafíos planteados por cambios en sus ambientes externo e interno. Después, Walter Cannon acuñó el término "homeostasis" para describir la habilidad de los animales para mantener un ambiente intracelular constante a pesar de cambios de su entorno externo. Ahora se sabe que los organismos responden a cambios en sus ambientes externo e interno mediante ajustes equilibrados y coordinados de las tasas de reacciones metabólicas específicas. Intermediarios metabólicos como el 5'−AMP y el NAD^+, así como subproductos como las especies reactivas de oxígeno sirven como indicadores internos del estado celular. Cascadas de transducción de señal conectan los receptores que detectan factores externos con proteínas intracelulares apropiadas para iniciar respuestas adaptativas.

Las perturbaciones de la maquinaria de respuesta a detector de la cual depende el mantenimiento del equilibrio homeostático, pueden ser nocivas para la salud de los humanos. El cáncer, la diabetes, la fibrosis quística y la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, se caracterizan por disfunciones de la regulación desencadenadas por la interacción de agentes patógenos, mutaciones genéticas, aportaciones nutricionales y las prácticas relacionadas con el estilo de vida. Muchos virus oncogénicos elaboran proteína-tirosina cinasas que modifican los eventos reguladores que controlan los modelos de expresión de gen, lo que contribuye al inicio de cáncer y la progresión del mismo. La toxina de *Vibrio cholerae*, el agente causal del cólera, inhabilita vías de respuesta a detector en las células del epitelio intestinal al producir ADP-ribosilación de las proteínas de unión a GTP (proteínas G) que enlazan receptores de superficie celular a la adenilil ciclasa. La activación consiguiente de la ciclasa conduce al flujo irrestricto de agua hacia los intestinos, lo que da por resultado diarrea masiva y deshidratación. *Yersinia pestis,* el agente causal de la peste, elabora una proteína-tirosina fosfatasa que hidroliza grupos fosforilo en proteínas clave del citoesqueleto. Se cree que las disfunciones en los sistemas proteolíticos de los cuales depende la degradación de proteínas defectuosas o anormales, participan en enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer

y la de Parkinson. Además de su función inmediata como reguladores de la actividad enzimática, la degradación de proteína, etc., las modificaciones covalentes, como la fosforilación, acetilación y ubiquitinación, proporcionan un código basado en proteína para el almacenamiento de información y la transmisión hereditaria de la misma (capítulo 35). Esos sistemas de información dependientes de DNA se denominan **epigenéticos**. De esta manera, el conocimiento de los factores que controlan los índices de reacciones catalizadas por enzima es esencial para un entendimiento de la base molecular de la enfermedad y su transmisión. Este capítulo esboza los modelos mediante los cuales se controlan los procesos metabólicos y proporciona ejemplos ilustrativos. Los capítulos subsiguientes ofrecen más ejemplos.

LA REGULACIÓN DEL FLUJO DE METABOLITOS PUEDE SER ACTIVA O PASIVA

Las enzimas que operan a su tasa máxima no pueden aumentar su rendimiento para adaptarse a aumentos repentinos de la disponibilidad de sustrato y sólo pueden responder a decrementos precipitados de la concentración de sustrato. En consecuencia, los valores de K_m para casi todas las enzimas tienden a ser cercanos a la concentración intracelular promedio de sus sustratos, de modo que los cambios de la concentración de sustrato generan cambios correspondientes del flujo de metabolitos (**figura 9-1**). Las respuestas a cambios de la concentración de sustrato representan un medio importante pero *pasivo* para coordinar el flujo de metabolitos. Sin embargo, su capacidad para mostrar respuesta a cambios en variables ambientales es limitada. A continuación se comentan los mecanismos que regulan la eficiencia de las enzimas de una manera *activa* en respuesta a señales internas y externas.

El flujo de metabolitos tiende a ser unidireccional

Pese a la existencia de oscilaciones a corto plazo de las concentraciones de metabolitos y de enzimas, las células vivas existen en un estado estable dinámico en el cual las concentraciones medias de intermediarios metabólicos permanecen relativamente constantes con el tiempo. Aun cuando todas las reacciones químicas

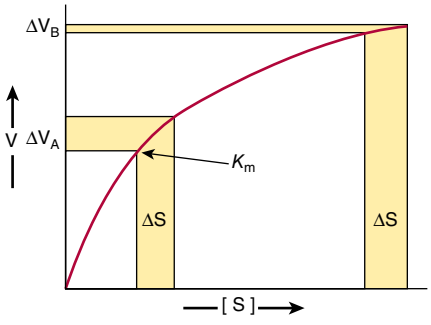


FIGURA 9-1 Respuesta diferencial del índice de una reacción catalizada por enzima, ΔV, al mismo cambio creciente de la concentración de sustrato, a una concentración de sustrato de K_m (ΔV_A) o muy por arriba de la K_m (ΔV_B).

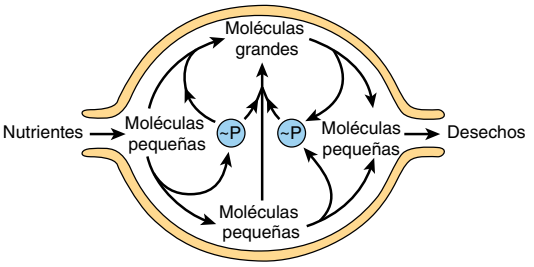


FIGURA 9-2 Célula idealizada en estado estable. Note que el flujo de metabolitos es unidireccional.

son hasta cierto grado reversibles, en las células vivas los productos de reacción sirven como sustratos para —y son eliminados por— otras reacciones catalizadas por enzima (**figura 9-2**). De este modo, muchas reacciones nominalmente reversibles ocurren de manera unidireccional. Tal sucesión de reacciones metabólicas acopladas se acompaña de un cambio *general* de la energía libre que favorece el flujo unidireccional de metabolitos. El flujo unidireccional de metabolitos a través de una vía con un cambio negativo general grande en energía libre es análogo al flujo de agua a través de una tubería en la cual un extremo está más bajo que el otro. Las flexiones o los acodamientos en la tubería simulan pasos individuales catalizados por enzima con un cambio negativo o positivo pequeño de la energía libre. Empero, el flujo de agua a través de la tubería permanece unidireccional debido al cambio general de altura, que corresponde al cambio general de la energía libre en una vía (**figura 9-3**).

LA COMPARTIMENTACIÓN ASEGURA LA EFICIENCIA METABÓLICA Y SIMPLIFICA LA REGULACIÓN

En eucariontes, las vías anabólicas y catabólicas que sintetizan y desintegran biomoléculas comunes a menudo están físicamente separadas unas de otras. Ciertas vías metabólicas sólo residen en tipos de células especializados o, en el interior de una célula, dentro de compartimientos subcelulares separados. Por ejemplo, muchas de las enzimas que degradan proteínas y polisacáridos residen en orgánulos llamados lisosomas. De modo similar, la biosíntesis de ácidos grasos ocurre en el citosol, mientras que

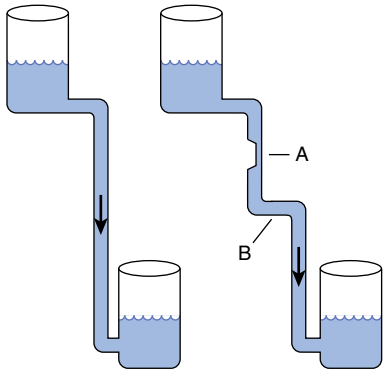


FIGURA 9-3 Analogía hidrostática para una vía con un paso limitante (A) y un paso con un valor de ΔG cercano a cero (B).

la oxidación de ácidos grasos tiene lugar en las mitocondrias (capítulos 22 y 23). Afortunadamente, muchas vías al parecer antagonistas pueden coexistir en ausencia de barreras físicas, siempre y cuando la termodinámica dicte que cada una procede con la formación de uno o más *intermediarios únicos*. Para cualquier reacción o serie de reacciones, el cambio de la energía libre que tiene lugar cuando el flujo de metabolitos procede en la dirección "anterógrada" es de igual magnitud *pero de signo opuesto* al que se requiere para proceder en la dirección inversa. Algunas enzimas dentro de estas vías catalizan reacciones, como isomerizaciones, que pueden actuar como catalíticos bidireccionales *in vivo* porque la diferencia de energía libre entre sustratos y productos es cercana a cero. Sin embargo, representan la excepción más que la regla. Casi todas las vías metabólicas proceden por medio de uno o más pasos para los cuales ΔG es importante. Por ejemplo, la glucólisis, la desintegración de glucosa para formar dos moléculas de piruvato, tiene un ΔG general favorable de –96 kJ/mol, un valor demasiado grande para simplemente operar en "reversa" cuando se desea convertir piruvato excesivo en glucosa. En consecuencia, la gluconeogénesis procede por medio de una vía en la cual los tres pasos más energéticamente desfavorecidos de la glucólisis son reemplazados por reacciones nuevas catalizadas por enzimas separadas (capítulo 19).

La capacidad de las enzimas para distinguir entre las coenzimas estructuralmente similares NAD^+ y $NADP^+$ también da lugar a una forma de compartimentación. Los potenciales de reducción de ambas coenzimas son similares; sin embargo, casi todas las enzimas que catalizan las reacciones que generan los electrones destinados para la cadena de transporte de electrones reducen NAD^+, mientras que las enzimas que catalizan los pasos reductivos en muchas vías biosintéticas por lo general usan NADPH como el donador de electrones.

El control de una enzima que cataliza una reacción limitante regula una vía metabólica completa

Si bien el flujo de metabolitos a través de vías metabólicas incluye catálisis por muchas enzimas, el control activo de la homeostasis se logra por medio de regulación de únicamente un subgrupo selecto de estas enzimas. La enzima ideal para intervención reguladora es aquella cuya cantidad o eficiencia catalítica dicta que la reacción que cataliza sea lenta en comparación con todas las otras en la vía. Por ende, el decremento de la eficiencia catalítica o de la cantidad del catalítico para la **reacción limitante de la velocidad** reduce de inmediato el flujo de metabolitos por toda la vía. A la inversa, un incremento de su cantidad o eficiencia catalítica aumenta el flujo a través de la vía en conjunto. Por ejemplo, la acetil-CoA carboxilasa cataliza la síntesis de malonil-CoA, la primera reacción comprometida de la biosíntesis de ácidos grasos (capítulo 23). Cuando se inhibe la síntesis de malonil-CoA, las reacciones subsiguientes de la síntesis de ácidos grasos cesan por falta de sustratos. Como "rectoras" naturales del flujo metabólico, las enzimas que catalizan pasos limitantes constituyen blancos eficientes para intervención reguladora mediante fármacos. Así, por ejemplo, los fármacos "estatina" reducen la síntesis de colesterol al inhibir la HMG-CoA reductasa, que cataliza la reacción limitante de la colesterogénesis.

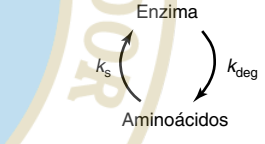
REGULACIÓN DE LA CANTIDAD DE ENZIMA

La capacidad catalítica de la reacción limitante en una vía metabólica es el producto de la concentración de moléculas de enzima y su eficiencia catalítica intrínseca. Por ende, resulta que la capacidad catalítica puede ser controlada mediante cambiar la cantidad de enzima presente y alterar su eficiencia catalítica intrínseca o una combinación de ambos.

Las proteínas se sintetizan y degradan de manera continua

Al medir los índices de incorporación de los aminoácidos ^{15}N marcados hacia proteínas, y los índices de pérdida de ^{15}N desde proteína, Schoenheimer dedujo que las proteínas del cuerpo se encuentran en un estado de "equilibrio dinámico" en el cual se están sintetizando y degradando de manera continua, proceso llamado **recambio de proteína**. Esto sigue siendo válido incluso para las proteínas **constitutivas**, aquellas que están presentes a una concentración de estado estable relativamente constante. Por otro lado, las concentraciones de muchas enzimas están influidas por una amplia gama de factores fisiológicos, hormonales o de la dieta.

La cantidad absoluta de una enzima refleja el balance neto entre sus índices de síntesis y de degradación. En humanos, las alteraciones de las cifras de enzimas específicas pueden estar afectadas por un cambio de la constante de índice para los procesos generales de síntesis (k_s), degradación (k_{deg}), o ambos.



Control de la síntesis de enzima

La síntesis de ciertas enzimas depende de la presencia de **inductores**, típicamente sustratos o compuestos relacionados desde el punto de vista estructural que estimulan la transcripción del gen que las codifica (capítulos 36 y 37). Por ejemplo, *Escherichia coli* cultivada en glucosa sólo cataboliza lactosa luego de adición de un β-galactósido, un inductor que inicia la síntesis de una beta-galactosidasa y una galactósido permeasa (figura 38-3). Las enzimas inducibles de seres humanos comprenden la triptófano pirrolasa, treonina deshidratasa, tirosina-α-cetoglutarato aminotransferasa, enzimas del ciclo de la urea, HMG-CoA reductasa, sintasa-δ-aminolevulinato y citocromo P450. A la inversa, un exceso de un metabolito puede restringir la síntesis de su enzima cognada por medio de **represión**. Tanto la inducción como la represión implican elementos *cis*, secuencias de DNA específicas localizadas torrente arriba de genes regulados, y proteínas reguladoras que transactúan. Los mecanismos moleculares de la inducción y represión se comentan en el capítulo 38. La síntesis de otras enzimas puede estimularse mediante los **factores de transcripción** cuya actividad es controlada por la interacción de hormonas y otras señales extracelulares con receptores de superficie específicos de célula. En el capítulo 42 se presenta información detallada sobre el control de la síntesis de proteína en respuesta a estímulos hormonales.

Control de la degradación de enzima

En animales, muchas proteínas se degradan por medio de la vía de la ubiquitina-proteasoma, cuyo descubrimiento les valió un Premio Nobel a Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose. La degradación ocurre en el protrasoma 26S, un complejo macromolecular grande constituido por más de 30 subunidades polipeptídicas dispuestas en forma de cilindro hueco. Los sitios activos de sus subunidades proteolíticas miran hacia el interior del cilindro, lo que impide degradación indiscriminada de proteínas celulares (vea la portada). Las proteínas se dirigen hacia el interior del proteasoma mediante "ubiquitinación", la fijación covalente de una o más moléculas de ubiquitina; esta última es una proteína pequeña, de alrededor de 8.5 kDa, que está muy conservada entre eucariotas. La ubiquitinación es catalizada por una familia grande de enzimas denominadas ligasas E3, que fijan ubiquitina al grupo amino de cadena lateral de residuos lisilo.

La vía de la ubiquitina-proteasoma se encarga tanto de la degradación regulada de proteínas celulares seleccionadas (p. ej., ciclinas, capítulo 35), como de la eliminación de especies proteínicas defectuosas o aberrantes. La clave para la versatilidad y selectividad del sistema de ubiquitina-proteasoma reside tanto en la variedad de las ligasas E3 intracelulares, como en su capacidad para distinguir entre diferentes estados físicos o conformacionales de una proteína blanco. De este modo, la vía de la ubiquitina-proteasoma puede degradar de manera selectiva proteínas cuya integridad física y competencia funcional han quedado comprometidas por la pérdida de un grupo prostético o por daño del mismo, oxidación de residuos cisteína o histidina, o desaminación de residuos asparagina o glutamina (capítulo 58). El reconocimiento por enzimas proteolíticas también puede ser regulado por modificaciones covalentes, como fosforilación; unión de sustratos o de efectores alostéricos, o asociación con membranas, oligonucleótidos u otras proteínas. Cada vez más pruebas sugieren que las disfunciones de la vía de ubiquitina-proteasoma contribuyen a la acumulación de proteínas plegadas de modo aberrante, características de varias enfermedades neurodegenerativas.

HAY MÚLTIPLES OPCIONES PARA REGULAR LA ACTIVIDAD CATALÍTICA

En humanos, la inducción de síntesis de proteína es un proceso complejo, de múltiples pasos, que típicamente requiere horas para producir cambios importantes de la concentración de enzima general. En contraste, los cambios de la eficiencia catalítica intrínseca por unión de ligandos disociables **(regulación alostérica)** o por **modificación covalente** logran regulación de la actividad enzimática en segundos. En consecuencia, los cambios en la concentración de proteína suelen dominar cuando se encuentran requerimientos adaptativos a largo plazo, mientras que los cambios de la eficiencia catalítica favorecen alteraciones rápidas y transitorias del flujo de metabolitos.

LOS EFECTORES ALOSTÉRICOS REGULAN CIERTAS ENZIMAS

Inhibición por retroalimentación se refiere al proceso mediante el cual el producto terminal de una vía biosintética de múltiples pasos se une a, e inhibe, una enzima que cataliza uno de los primeros pasos en esa vía. Casi siempre, los inhibidores por retroalimentación inhiben la enzima que cataliza el primer paso comprometido en una secuencia biosintética particular. En el ejemplo que sigue, la biosíntesis de D a partir de A es catalizada por las enzimas Enz_1 a Enz_3:

$$A \xrightarrow{Enz_1} B \xrightarrow{Enz_2} C \xrightarrow{Enz_3} D$$

la concentración alta de D inhibe la conversión de A en B. En este ejemplo, el inhibidor por retroalimentación D actúa como un **efector alostérico negativo** de Enz_1. Sobreviene inhibición, no por el "respaldo" de intermediarios, sino por la capacidad de D para unirse a Enz_1 e inhibirla. Por lo general D se une en un **sitio alostérico**, distinto desde el punto de vista espacial del sitio catalítico de la enzima blanco. Así, los inhibidores por retroalimentación típicamente tienen poca o ninguna similitud estructural con los sustratos de las enzimas que inhiben, por ejemplo, el NAD^+ y 3-fosfoglicerato, los sustratos para la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa, que cataliza el primer paso comprometido de la biosíntesis de serina, no se parecen al inhibidor por retroalimentación serina. En vías biosintéticas ramificadas, como las que se encargan de la biosíntesis de nucleótidos (capítulo 33), las reacciones iniciales proporcionan intermediarios requeridos para la síntesis de múltiples productos terminales. En la **figura 9-4** se muestra una vía biosintética ramificada hipotética en la cual las flechas curvas van desde los inhibidores por retroalimentación hacia las enzimas cuya actividad inhiben. Las secuencias $S_3 \rightarrow A$, $S_4 \rightarrow B$, $S_4 \rightarrow C$ y $S_3 \rightarrow \rightarrow D$, representan, cada una, secuencias de reacción lineal que son inhibidas por retroalimentación por sus productos finales. Así, las enzimas de punto de ramificación pueden direccionarse para dirigir el flujo de metabolitos.

Los inhibidores por retroalimentación típicamente inhiben el primer paso comprometido en una secuencia biosintética particular. La cinética de inhibición por retroalimentación puede ser competitiva, no competitiva, parcialmente competitiva, o mixta. La actividad escalonada de múltiples asas de retroalimentación puede proporcionar control fino adicional. Por ejemplo, la presencia de producto B excesivo disminuye el requerimiento del sustrato S_2 **(figura 9-5)**. Sin embargo, S_2 también se requiere para la síntesis de A, C y D. De este modo, para esta vía, el exceso de B restringe la síntesis de los cuatro productos terminales, al margen de la necesidad de los otros tres. Para sortear esta dificultad potencial, cada producto terminal sólo puede inhibir de manera

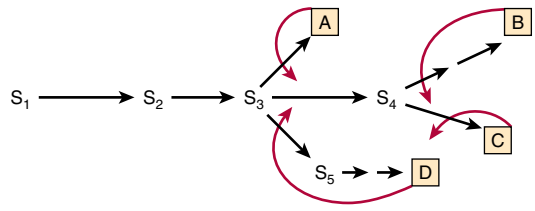


FIGURA 9-4 Sitios de inhibición por retroalimentación en una vía biosintética ramificada. S_1-S_5 son intermediarios en la biosíntesis de productos terminales A–D. Las flechas rectas representan enzimas que catalizan las conversiones indicadas. Las flechas de color rojo curvas representan asas de retroalimentación e indican sitios de inhibición por retroalimentación por productos terminales específicos.

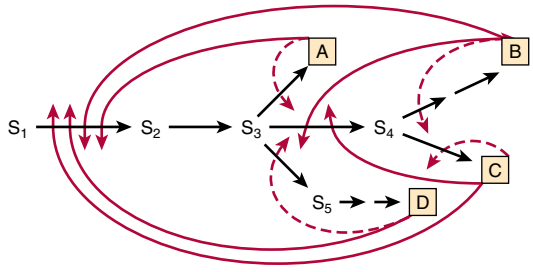


FIGURA 9-5 Inhibición por retroalimentación múltiple en una vía biosintética ramificada. Superpuestas sobre asas de retroalimentación simples (flechas rojas discontinuas) hay asas de retroalimentación múltiples (flechas rojas continuas) que regulan enzimas comunes a la biosíntesis de varios productos.

parcial la actividad catalítica. El efecto de un exceso de dos o más productos terminales puede ser estrictamente aditivo o, de modo alternativo, mayor que su efecto individual (inhibición por retroalimentación cooperativa). De manera alternativa, por ejemplo, la vía ramificada de la cual depende la síntesis de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano en bacterias, pueden evolucionar múltiples isoformas de una enzima, cada una de las cuales es sensible a un producto terminal de vía diferente. La concentración alta de cualquier producto terminal inhibirá la catálisis por sólo una isoforma única, lo que reduce el flujo por la porción compartida de la vía, pero no lo elimina.

La aspartato transcarbamoilasa (ATCasa) es una enzima alostérica modelo

La ATCasa, el catalítico para la primera reacción singular para la biosíntesis de pirimidina (figura 33-9), es un blanco de regulación por retroalimentación por dos nucleótidos trifosfato de citidina (CTP) y trifosfato de adenosina (ATP). El CTP, un producto terminal de la vía biosintética de pirimidina, inhibe la ATCasa, mientras que el nucleótido de purina ATP la activa. Además, las concentraciones altas de ATP pueden superar la inhibición por CTP, lo que permite que la síntesis de nucleótidos *pirimidina* proceda cuando las concentraciones de nucleótido *purina* están altas.

Los sitios alostérico y catalítico están separados espacialmente

Jacques Monod propuso la existencia de sitios alostéricos que son físicamente distintos del sitio catalítico. Razonó que la falta de similitud estructural entre un inhibidor por retroalimentación y el o los sustratos para la enzima cuya actividad regula indicó que estos efectores no son **isostéricos** con un sustrato, sino **alostéricos** ("ocupan otro espacio"). **Así, las enzimas alostéricas son aquellas para las cuales la catálisis en el sitio activo puede modularse mediante la presencia de efectores en un sitio alostérico.** Desde entonces, la existencia de sitios activos y alostérico separados espacialmente se ha verificado en varias enzimas usando muchas líneas de evidencia. Por ejemplo, la cristalografía con rayos X reveló que la ATCasa de *E. coli* consta de seis subunidades catalíticas y seis subunidades reguladoras, de las cuales estas últimas se unen a los nucleótido trifosfatos que modulan la actividad. En general, la unión de un regulador alostérico influye sobre la catálisis mediante inducir un cambio conformacional en la enzima que abarca el sitio activo.

Los efectos alostéricos pueden ocurrir sobre K_m o sobre $V_{máx}$

Hacer referencia a la cinética de la inhibición alostérica como "competitiva" o "no competitiva" con sustrato conlleva implicaciones mecanicistas desorientadoras. En lugar de eso se hace referencia a dos clases de enzimas reguladas alostéricamente: de la serie K y de la serie V. Para las enzimas alostéricas de la serie K, la cinética de saturación de sustrato es competitiva en el sentido de que K_m está incrementada sin un efecto sobre $V_{máx}$. Para enzimas alostéricas de la serie V, el inhibidor alostérico disminuye $V_{máx}$ sin afectar la K_m. Las alteraciones de K_m o $V_{máx}$ a menudo se producen por cambios conformacionales en el sitio catalítico inducidos por unión del efector alostérico en su sitio. Para una enzima alostérica de la serie K, este cambio conformacional puede debilitar los enlaces entre sustrato y residuos de unión a sustrato. Para una enzima alostérica de la serie V, el efecto primario puede ser alterar la orientación o la carga de residuos catalíticos, lo que genera un decremento de la $V_{máx}$. Aun así, como consecuencia de estos cambios conformacionales, pueden observarse efectos intermedios sobre K_m y $V_{máx}$.

LA REGULACIÓN POR RETROALIMENTACIÓN NO ES SINÓNIMO DE INHIBICIÓN POR RETROALIMENTACIÓN

En células tanto de mamífero como de bacterias, algunos productos terminales producen "retroalimentación" de su propia síntesis, y la controlan, en muchos casos por medio de inhibición por retroalimentación de una enzima biosintética temprana. Es necesario distinguir entre **regulación por retroalimentación**, término fenomenológico desprovisto de inferencias mecanicistas, e **inhibición por retroalimentación**, mecanismo para la regulación de la actividad enzimática. Por ejemplo, si bien el colesterol de la dieta aminora la síntesis hepática de colesterol, esta **regulación** por retroalimentación no incluye **inhibición** por retroalimentación. La HMG-CoA reductasa, la enzima limitante de la colesterogénesis, queda afectada, pero el colesterol no inhibe por retroalimentación su actividad. De hecho, la regulación en respuesta al colesterol de la dieta comprende restricción por el colesterol o por un metabolito del colesterol, de la expresión del gen que codifica para HMG-CoA reductasa (represión de enzima) (capítulo 26). Como se mencionó, el ATP, un producto de la vía de nucleótidos purina, estimula la síntesis de nucleótidos pirimidina al activar la aspartato transcarbamilasa, un proceso que a veces se denomina regulación por "anteroacción"

MUCHAS HORMONAS ACTÚAN MEDIANTE SEGUNDOS MENSAJEROS ALOSTÉRICOS

Los impulsos nerviosos —y la unión de muchas hormonas a receptores de superficie celular— desencadenan cambios del índice de reacciones catalizadas por enzima dentro de células blanco, al inducir liberación o síntesis de efectores alostéricos especializados llamados **segundos mensajeros**. El mensajero

primario, o "primer mensajero", es la molécula de hormona o el impulso nervioso. Los segundos mensajeros incluyen 3',5'-cAMP, sintetizado a partir de ATP por la enzima adenilil ciclasa en respuesta a la hormona adrenalina, y Ca^{2+}, que se almacena dentro del retículo endoplásmico de casi todas las células. La despolarización de membrana originada por un impulso nervioso abre un canal de membrana que libera ion calcio hacia el citoplasma, donde se unen a enzimas comprendidas en la regulación de la contracción muscular y la movilización de glucosa almacenada desde glucógeno, y las activan. La glucosa después satisface las demandas de energía aumentadas de la contracción muscular. Otros segundos mensajeros incluyen el 3',5'-cGMP, óxido nítrico y los polifosfoinositoles, producidos por la hidrólisis de inositol fosfolípidos por fosfolipasas reguladas por hormona. En los capítulos 18, 42 y 50 hay ejemplos específicos de la participación de segundos mensajeros en la regulación de procesos celulares.

LAS MODIFICACIONES COVALENTES REGULADORAS PUEDEN SER REVERSIBLES O IRREVERSIBLES

En células de mamífero, ocurre un amplio rango de modificaciones covalentes reguladoras. La **proteólisis parcial** y la **fosforilación**, por ejemplo, se emplean a menudo para regular la actividad catalítica de enzimas. Por otro lado, las histonas y otras proteínas de unión a DNA en la cromatina están sujetas a modificación extensa mediante **acetilación**, **metilación**, **ribosilación de ADP**, así como fosforilación. Estas últimas modificaciones, que modulan la manera en la cual las proteínas dentro de la cromatina interactúan entre sí, así como el DNA mismo, constituyen la base para el "código de histona". Los cambios resultantes de la estructura de la cromatina dentro de la región afectada pueden hacer a los genes más accesibles a la proteína que se encarga de su transcripción, lo que aumenta la expresión de gen o, a mayor escala, facilita la replicación de todo el genoma (capítulo 38). Por otro lado, se dice que los cambios de la estructura de la cromatina que restringen la accesibilidad de genes a factores de transcripción, RNA polimerasas dependientes de DNA, etc., lo que inhibe la transcripción, **silencian** la expresión de gen.

El código de histona

El "código de histona" representa un ejemplo clásico de **epigenética**, la transmisión hereditaria de información por un medio que no es la secuencia de nucleótidos que comprende el genoma. En este caso, el patrón de expresión de gen dentro de una célula "hija" recién formada estará determinado, en parte, por el conjunto particular de modificaciones covalentes de histona incorporadas en las proteínas cromatina heredadas de la célula "parental".

Modificación covalente reversible

La acetilación, la ADP-ribosilación, la metilación y la fosforilación son ejemplos de modificaciones covalentes "reversibles". En este contexto, reversible se refiere al hecho de que la proteína modificada puede restituirse a su estado original, libre de modificación, no el mecanismo mediante el cual tiene lugar la restauración. La termodinámica dicta que si la reacción catalizada por enzima mediante la cual se introdujo la modificación es favorable desde el punto de vista termodinámico, tan sólo revertir el proceso se hará impráctico por el cambio de energía libre correspondientemente desfavorable.

LAS PROTEASAS PUEDEN SECRETARSE COMO PROENZIMAS INACTIVAS DESDE EL PUNTO DE VISTA CATALÍTICO

Ciertas proteínas son sintetizadas y secretadas como proteínas precursoras inactivas conocidas como **proproteínas**. Las proproteínas de enzimas se denominan **proenzimas** o **zimógenos**. La proteólisis selectiva o parcial convierte una proproteína por medio de uno o más "cortes" proteolíticos sucesivos en una forma que muestra la actividad característica de la proteína madura, por ejemplo, su actividad catalítica. Las formas proproteínas de enzimas son llamadas **proenzimas** o **cimógenos**. Las proteínas sintetizadas como proproteínas son la hormona insulina (proproteína = proinsulina), las enzimas digestivas pepsina, tripsina y quimotripsina (proproteínas = pepsinógeno, tripsinógeno y quimotripsinógeno, respectivamente), varios factores de las cascadas de coagulación y de complemento de la sangre (capítulos 52 y 55), y la proteína del tejido conjuntivo colágeno (proproteína = procolágeno).

La activación proteolítica de proproteínas constituye una modificación fisiológicamente irreversible porque la reunificación de las dos porciones de una proteína producida por hidrólisis de un enlace peptídico es desfavorecida desde el punto de vista entrópico. Una vez que una proteína es activada, seguirá llevando a cabo su función catalítica u otras funciones hasta que es eliminada por degradación o algún otro medio. De este modo, la activación de zimógeno representa un mecanismo sencillo y económico, aunque de una sola vía, para restringir la actividad latente de una proteína hasta que se encuentran las circunstancias apropiadas. Por ende, no sorprende que la proteólisis parcial a menudo se emplee para regular proteínas que funcionan en el tracto gastrointestinal o en el torrente sanguíneo más que en el interior de células.

Las proenzimas facilitan la movilización rápida de una actividad en respuesta a demanda fisiológica

La síntesis y secreción de proteasas como proenzimas inactivas en el aspecto catalítico, protege al tejido de origen (p. ej., el páncreas) contra autodigestión, como puede ocurrir en la pancreatitis. Ciertos procesos fisiológicos —como la digestión— son intermitentes, pero bastante regulares y predecibles en cuanto a frecuencia. Otros, como la formación de coágulo de sangre, la disolución de coágulo y la reparación de tejido, sólo se ponen en marcha en respuesta a necesidad fisiológica o fisiopatológica apremiante. Está claro que los procesos de formación de coágulo de sangre y de disolución del mismo deben estar coordinados de modo temporal para lograr la homeostasis. Las enzimas necesarias de manera intermitente pero con rapidez a menudo se secretan en una forma inicialmente inactiva puesto que el proceso de secreción o la síntesis nueva de las proteínas requeridas podría ser insuficientemente rápido para responder a una demanda fisiopatológica apremiante, como la pérdida de sangre (capítulo 55).

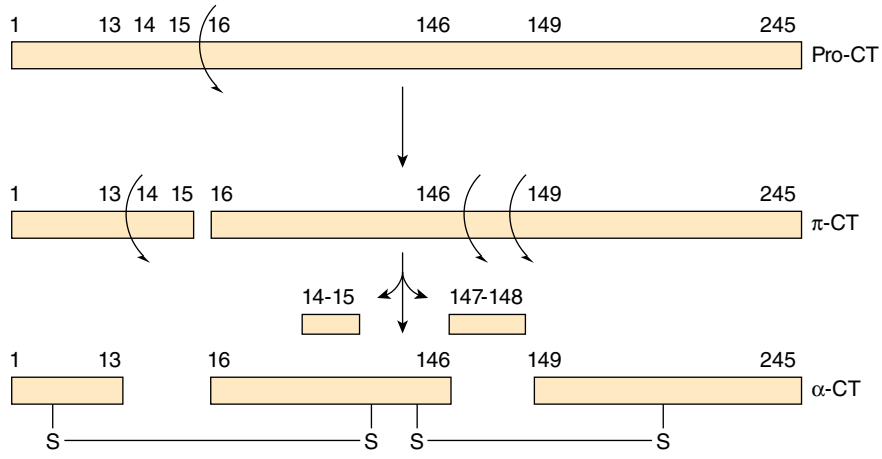


FIGURA 9-6 Representación bidimensional de la secuencia de eventos proteolíticos que a la postre dan por resultado la formación del sitio catalítico de quimotripsina, que incluye la tríada catalítica Asp 102-His57-Ser195 (véase la figura 7-7). La proteólisis sucesiva forma pro-quimotripsina (pro-CT), π-quimotripsina (π-Ct), y en última instancia α-quimotripsina (α-CT), proteasa activa cuyos tres péptidos (A, B, C) permanecen relacionados por enlaces covalentes entre cadena disulfuro.

La activación de la proquimotripsina requiere proteólisis selectiva

La proteólisis selectiva comprende uno o más cortes proteolíticos muy específicos que pueden o no acompañarse de separación de los péptidos resultantes. Lo que es más importante, la proteólisis selectiva suele originar cambios conformacionales que configuran de manera apropiada un sitio activo de una enzima. Note que aun cuando los residuos His 57 y Asp 102 catalíticamente esenciales residen en el péptido B de la α-quimotripsina, Ser 195 reside en el péptido C (**figura 9-6**). Los cambios conformacionales que acompañan a la proteólisis selectiva de la proquimotripsina (quimotripsinógeno) alinean los tres residuos de la red de transmisión de carga (figura 7-7), lo que forma el sitio catalítico. Note también que los residuos de contacto y catalítico pueden estar ubicados en diferentes cadenas peptídicas, pero aún estar dentro de la distancia formadora de enlace de sustrato unido.

LA MODIFICACIÓN COVALENTE REVERSIBLE REGULA PROTEÍNAS CLAVE DE MAMÍFERO

Miles de proteínas de mamíferos son modificadas mediante fosforilación covalente

Las proteínas de mamífero son los blancos de una amplia gama de procesos de modificación covalente. Las modificaciones como prenilación, glucosilación, hidroxilación y acilación de ácido graso introducen características estructurales singulares en proteínas recién sintetizadas, que tienden a persistir durante toda la vida de la proteína. Entre las modificaciones covalentes que regulan la función de proteína, las más frecuentes con mucho son la fosforilación-desfosforilación y la acetilación-desacetilación. Las **proteína cinasas** fosforilan proteínas al catalizar la transferencia del grupo fosforilo terminal de ATP hacia los grupos hidroxilo de residuos serilo, treonilo o tirosilo, lo que forma residuos *O*-fosfoserilo, *O*-fosfotreonilo, u *O*-fosfotirosilo, respectivamente (**figura 9-7**). Algunas proteína cinasas se dirigen hacia las cadenas laterales de residuos histidilo, lisilo, arginilo y aspartilo. La forma no modificada de la proteína puede regenerarse mediante eliminación hidrolítica de grupos fosforilo, catalizada por **proteína fosfatasas**. Una célula de mamífero característica posee miles de proteínas fosforiladas y varios cientos de proteína cinasas y proteína fosfatasas que catalizan su interconversión. La facilidad de interconversión de enzimas entre sus formas fosfo- y desfosfo- explica, en parte, la frecuencia con la cual la fosforilación-desfosforilación se utiliza como un mecanismo para el control regulatorio. La fosforilación-desfosforilación permite alterar las propiedades funcionales de la enzima afectada sólo durante el tiempo que satisfaga una necesidad específica. Una vez que la necesidad ha desaparecido, la enzima puede convertirse de regreso a su forma original, preparada para responder al siguiente evento estimulador. Un segundo factor que fundamenta el uso difundido de fosforilación-desfosforilación de proteínas yace en las propiedades químicas del grupo fosforilo mismo. A fin de alterar las propiedades funcionales de una enzima, es necesario que cualquier modificación de su estructura química influya sobre la configuración tridimensional de la proteína. La densidad de carga alta de grupos fosforilo unidos a proteína —en general -2 a pH fisiológico— y su propensión a formar fuertes puentes salinos con residuos arginilo y lisilo, hacen de ellos potentes agentes para modificar la estructura y función de proteínas. La fosforilación regularmente influye sobre la eficiencia catalítica intrínseca de una enzima o sobre otras propiedades al inducir cambios

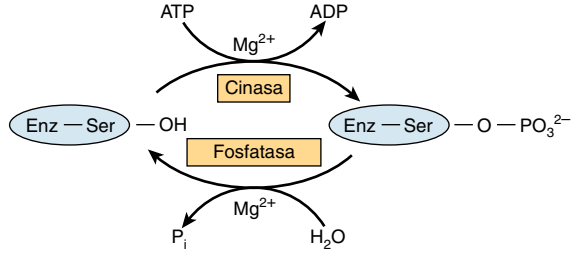


FIGURA 9-7 Modificación covalente de una enzima regulada por fosforilación-desfosforilación de un residuo serilo.

conformacionales. Por tanto, los aminoácidos hacia los cuales se dirige la fosforilación pueden estar, y por lo general lo están, relativamente distantes del sitio catalítico en sí.

Acetilación de proteína: una modificación omnipresente de enzimas metabólicas

La acetilación-desacetilación covalente se ha asociado desde hace mucho tiempo con histonas y otras proteínas nucleares. Sin embargo, en años recientes, estudios de proteómica han revelado que miles de otras proteínas de mamífero están sujetas a modificación por acetilación covalente, entre ellas casi cada enzima presente en vías metabólicas clave, como la glucólisis, la síntesis de glucógeno, la gluconeogénesis, el ciclo del ácido tricarboxílico, la β-oxidación de ácidos grasos y el ciclo de la urea. Las repercusiones reguladoras potenciales de la acetilación-desacetilación se han establecido para sólo un puñado de estas proteínas. Sin embargo, incluyen muchas enzimas importantes desde el punto de vista metabólico, como la acetil-CoA sintetasa, la acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga, la malato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa, glutamato deshidrogenasa, carbamoil fosfato sintetasa y ornitina transcarbamilasa.

Las **lisina acetiltransferasas** catalizan la transferencia del grupo acetil de la acetil-CoA a los grupos ε-amino de residuos de lisilo, lo cual forma *N*-acetil lisina. Además, algunas proteínas, en particular las que se encuentran en las mitocondrias, quedan acetiladas al reaccionar con acetil-CoA directamente, esto es, sin la intervención de un catalítico enzimático. La acetilación no sólo aumenta la masa estérica de la cadena lateral de lisina, sino que transforma una amina primaria básica y en potencia con carga positiva hacia una amida no ionizable neutra. Se han identificado dos clases de proteína desacetilasas: **histona desacetilasas** y **sirtuínas**. Las histona desacetilasas catalizan la eliminación de grupos acetilo por hidrólisis, lo cual regenera la forma no modificada de la proteína y acetato como productos. Por otro lado, las sirtuínas usan el NAD^+ como sustrato, lo que da *O*-acetil ADP-ribosa y nicotinamida como productos además de la proteína no modificada.

Las modificaciones covalentes regulan el flujo de metabolitos

En muchos aspectos, los sitios de fosforilación, acetilación y otras modificaciones covalentes de proteína pueden considerarse otra forma de sitio alostérico. Sin embargo, en este caso el "ligando alostérico" se une de manera covalente a la proteína. La fosforilación-desfosforilación, la acetilación-desacetilación, y la inhibición por retroalimentación proporcionan regulación a corto plazo, fácilmente reversible, del flujo de metabolitos en respuesta a señales fisiológicas específicas. Las tres actúan de manera independiente de cambios de la expresión de gen. Tanto la fosforilación-desfosforilación como la inhibición por retroalimentación por lo general actúan sobre enzimas tempranas de una vía metabólica prolongada, y ambas actúan en sitios alostéricos más que catalíticos. Sin embargo, la inhibición por retroalimentación comprende una proteína única que está influida de manera indirecta, si es que está influida, por señales hormonales o neurales. En contraste, la regulación de las enzimas de mamífero por fosforilación-desfosforilación comprende varias proteínas y ATP, y está bajo control neural y hormonal directo.

Por otro lado, la acetilación-desacetilación establece como objetivo múltiples proteínas en una vía. Se ha emitido la hipótesis de que el grado de acetilación de enzimas metabólicas está modulado en alto grado por el estado de energía de la célula. Bajo este modelo, la concentración alta de acetil-CoA (el sustrato para las lisina acetiltransferasas y el reactivo en la acetilación de lisina no enzimática) presente en una célula bien nutrida promovería la acetilación de lisina. Cuando hay carencia de nutrientes, la concentración de acetil-CoA disminuye y la proporción de NAD^+/NADH aumenta, lo cual favorece la desacetilación de proteína.

LA FOSFORILACIÓN DE PROTEÍNA ES EN EXTREMO VERSÁTIL

La fosforilación-desfosforilación de proteína es un proceso muy versátil y selectivo. No todas las proteínas están sujetas a fosforilación; esta última sólo se dirige a uno, o un pequeño subgrupo, de los muchos grupos hidroxilo sobre la superficie de una proteína. Si bien la función enzimática afectada más a menudo es la eficiencia catalítica de la proteína, la fosforilación también puede alterar su ubicación dentro de la célula, la susceptibilidad a la degradación proteolítica, o la capacidad de respuesta a regulación por ligandos alostéricos. La fosforilación puede incrementar la eficiencia catalítica de una enzima y convertirla en su forma activa en una proteína, mientras que la fosforilación de otra proteína la convierte en una forma intrínsecamente ineficiente, o inactiva (**cuadro 9-1**).

Muchas proteínas pueden fosforilarse en múltiples sitios. Otras están sujetas a regulación tanto por fosforilación-desfosforilación, como por la unión de ligandos alostéricos, o por fosforilación-desfosforilación y otra modificación covalente. La fosforilación-desfosforilación en cualquier sitio puede catalizarse por múltiples proteína cinasas o proteína fosfatasas. Muchas proteína cinasas y casi todas las proteína fosfatasas actúan sobre más de una proteína y se interconvierten entre formas activa e inactiva

CUADRO 9-1 Ejemplos de enzimas de mamífero cuya actividad catalítica es alterada por fosforilación-desfosforilación covalente

	Estado de actividad	
Enzima	**Baja**	**Alta**
Acetil-CoA carboxilasa	EP	E
Glucógeno sintasa	EP	E
Piruvato deshidrogenasa	EP	E
HMG-CoA reductasa	EP	E
Glucógeno fosforilasa	E	EP
Citrato liasa	E	EP
Fosforilasa b cinasa	E	EP
HMG-CoA reductasa cinasa	E	EP

Abreviaturas: E, desfosfoenzima; EP, fosfoenzima.

por la unión de segundos mensajeros o por modificación covalente por fosforilación-desfosforilación.

La interrelación entre proteína cinasas y proteína fosfatasas, entre las consecuencias funcionales de la fosforilación en diferentes sitios, entre sitios de fosforilación y sitios alostéricos, o entre sitios de fosforilación y otros sitios de modificación covalente, proporciona la base para redes reguladoras que integran múltiples informes de entrada ambientales para desencadenar una respuesta celular coordinada apropiada. En estas redes reguladoras complejas, enzimas individuales muestran respuesta a diferentes señales ambientales. Por ejemplo, si una enzima puede ser fosforilada en un sitio único por más de una proteína cinasa, puede ser convertida desde una forma catalíticamente eficiente hacia una ineficiente (inactiva), o viceversa, en respuesta a cualquiera de varias señales. Si la proteína cinasa es activada en respuesta a una señal diferente de la señal que activa la proteína fosfatasa, la fosfoproteína se convierte en un *nodo de decisión*, cuya salida funcional, generalmente actividad catalítica, refleja el estado de fosforilación. Dicho estado o grado de fosforilación está determinado por las actividades relativas de la proteína cinasa y la proteína fosfatasa, un reflejo de la presencia y de la fuerza relativa de las señales ambientales que actúan a través de cada una.

La capacidad de muchas proteína cinasas y proteína fosfatasas para dirigirse a más de una proteína proporciona un medio para una señal ambiental para regular de manera coordinada múltiples procesos metabólicos. Por ejemplo, las enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa y acetil-CoA carboxilasa —las enzimas controladoras para la biosíntesis de colesterol y ácido graso, respectivamente— son fosforiladas y desactivadas por la proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina (AMP). Cuando esta proteína cinasa se activa sea mediante fosforilación por aún otra proteína cinasa o en respuesta a la unión de su activador alostérico 5'-AMP, las dos vías principales de las cuales depende la síntesis de lípidos a partir de acetil-CoA quedan inhibidas.

EVENTOS REGULADORES INDIVIDUALES SE COMBINAN PARA FORMAR REDES DE CONTROL COMPLEJAS

Las células llevan a cabo una compleja gama de procesos metabólicos que deben regularse en respuesta a una amplia gama de factores ambientales. En consecuencia, las enzimas interconvertibles, y las enzimas de las cuales depende su interconversión no actúan como conmutadores de "encendido" y "apagado" aislados. Para satisfacer las demandas de mantener la homeostasis, estos bloques de construcción están enlazados para formar redes reguladoras integradas.

Un ejemplo bien estudiado de ese tipo de red es el ciclo de células eucarióticas que controla la división celular. Cuando emerge del estado quiescente, o G_0, el proceso en extremo complejo de división celular procede a través de una serie de fases específicas designadas G_1, S, G_2 y M (**figura 9-8**). Complejos sistemas de vigilancia, llamados **puntos de control**, evalúan indicadores clave de progreso para asegurar que ninguna fase del ciclo se inicie sino hasta que la fase previa esté completa. En la figura 9-8 se desglosa

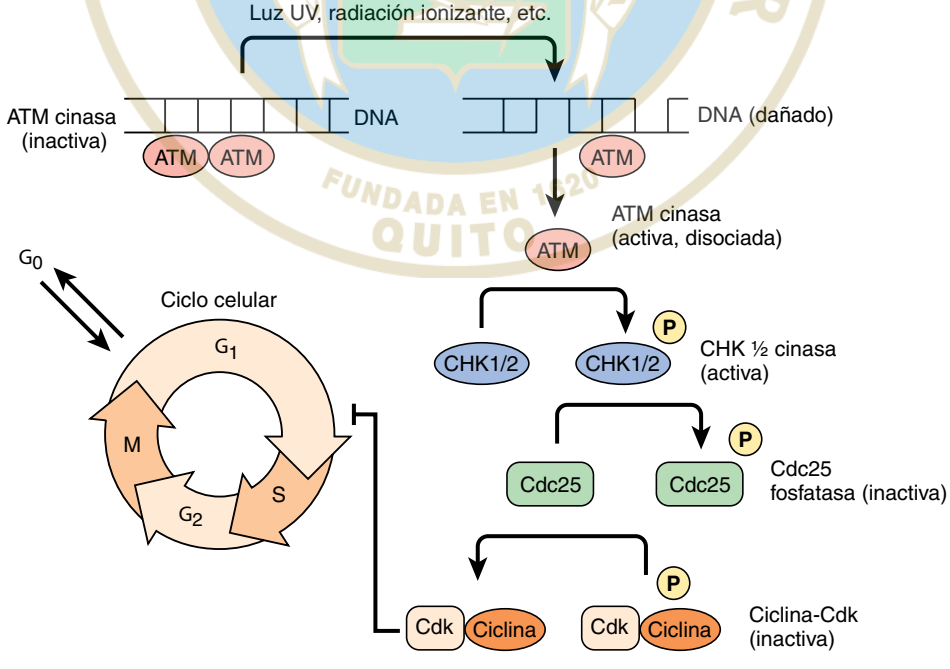


FIGURA 9-8 Representación simplificada del punto de control de G_1 a S del ciclo de célula eucariótica. El círculo muestra las diversas etapas en el ciclo de célula eucariótica. El genoma se replica durante la fase S, mientras que en el transcurso de la fase M las dos copias del genoma se segregan y ocurre división celular. Cada una de estas fases está separada por una fase *G*, o de crecimiento (*growth*), caracterizada por un incremento del tamaño de las células y la acumulación de los precursores requeridos para el montaje de los complejos macromoleculares grandes formados durante las fases S y M.

de modo simplificado parte del punto de control que regula el inicio de replicación de DNA, denominado la fase S. Una proteína cinasa llamada ATM se asocia con el genoma. Si el DNA contiene una rotura de doble cadena, el cambio resultante en la conformación de la cromatina activa a la ATM. En el momento de la activación, una subunidad del dímero de ATM activada se disocia e inicia una serie, o cascada, de eventos de fosforilación-desfosforilación de proteína mediados por las proteínas cinasas CHK1 y CHK2, proteína fosfatasa Cdc25 y, por último, un complejo entre una ciclina y una proteína cinasa dependiente de ciclina, o Cdk. La activación del complejo de Cdk/ciclina bloquea la transición de G_1 a S, lo que evita la replicación de DNA dañado. La falla en este punto de control puede llevar a mutaciones en el DNA que pueden conducir a cáncer u otras enfermedades. Cada paso en la cascada proporciona un conducto para vigilar indicadores adicionales del estado de la célula antes de entrar en la fase S.

RESUMEN

- La homeostasis incluye mantener un ambiente intracelular y dentro de órganos relativamente constante pese a amplias fluctuaciones en el ambiente externo. Esto se logra por medio de cambios apropiados en los índices de reacciones bioquímicas en respuesta a necesidad fisiológica.
- Los sustratos para casi todas las enzimas por lo general están presentes a una concentración cercana a su K_m. Esto facilita el control pasivo de los índices de formación de producto en respuesta a cambios de las concentraciones de intermediarios metabólicos.
- El control activo del flujo de metabolitos comprende cambios de la concentración, la actividad catalítica, o ambos, de una enzima que cataliza una reacción limitante comprometida.
- La proteólisis selectiva de proenzimas inactivas desde el punto de vista catalítico, inicia cambios conformacionales que forman el sitio activo. La secreción como una proenzima inactiva facilita la movilización rápida de actividad en respuesta a lesión o necesidad fisiológica, y puede proteger al tejido de origen (p. ej., autodigestión por proteasas).
- La unión de metabolitos y segundos mensajeros a sitios distintos del sitio catalítico de enzimas desencadena cambios conformacionales que alteran la $V_{máx}$ o la K_m.
- La fosforilación por proteína cinasas de residuos serilo, treonilo o tirosilo específicos —y la desfosforilación subsiguiente por proteína fosfatasas— regula la actividad de muchas enzimas de humanos.
- Las proteína cinasas y fosfatasas que participan en cascadas de regulación que responden a informes hormonales o de segundo mensajero, constituyen redes reguladoras que pueden procesar e integrar información ambiental compleja para producir una respuesta celular apropiada e integral.
- Muchas enzimas metabólicas son modificadas por la acetilación-desacetilación de residuos de lisina. Se cree que el grado de acetilación de estas proteínas está modulado por la disponibilidad de acetil-CoA, el sustrato donador de acetilo para lisina acetiltransferasas, y NAD^+, un sustrato para las desacetilasas sirtuína.
- La capacidad de las proteína cinasas, proteína fosfatasas, lisina acetilasas, y lisina desacetilasas para establecer como objetivo tanto múltiples proteínas como múltiples sitios en proteínas, es clave para la formación de redes reguladoras integradas.

REFERENCIAS

Ciechanover A, Schwartz AL: The ubiquitin system: pathogenesis of human diseases and drug targeting. Biochim Biophys Acta 2004;1695:3.

Elgin SC, Reuter G: In: Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D, *et al* (editors): *Epigenetics*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2007.

Guan K-L, Xiong Y: Regulation of intermediary metabolism by protein acetylation. Trends Biochem Sci 2011;36:108.

Johnson LN, Lewis RJ: Structural basis for control by phosphorylation. Chem Rev 2001;101:2209.

Muoio DM, Newgard CB: Obseity-related derangements in metabolic regulation. Anu Rev Biochem 2006;75:403.

Stieglitz K, Stec B, Baker DP, *et al*: Monitoring the transition from the T to the R state in *E coli* aspartate transcarbamoylase by x-ray crystallography: crystal structures of the E50A mutant enzyme in four distinct allosteric states. J Mol Biol 2004;341:853.

Tu BP, Kudlicki A, Rowicka M, *et al*: Logic of the yeast metabolic cycle: temporal compartmentalization of cellular processes. Science 2005;310:1152.

Walsh CT: *Posttranslational Modification of Proteins. Expanding Nature's Inventory*, Roberts and Company Publishers, 2006.

CAPÍTULO

10

Bioinformática y biología computacional

Peter J. Kennelly, PhD & Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las principales características de la genómica, proteómica y bioinformática.
- Reconocer el potencial de la medicina personalizada guiada por el genoma y los desafíos que plantea.
- Resumir las características principales y la importancia médica del proyecto ENCODE.
- Describir las funciones proporcionadas por las bases de datos HapMap, Entrez Gene y dbGAP.
- Explicar cómo BLAST y el desciframiento del código de plegamiento ayudan a los científicos en la elucidación de la forma y la función de proteínas desconocidas o hipotéticas.
- Describir las principales características del diseño y el descubrimiento de fármacos auxiliado por computadora.
- Describir posibles aplicaciones futuras de modelos computacionales de vías individuales y redes de vías.
- Esbozar la posible utilidad médica de "células virtuales".

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los primeros modelos científicos de patogenia, como la teoría de la enfermedad por gérmenes, de gran influencia, de Louis Pasteur, fueron de naturaleza binaria: cada enfermedad poseía un agente causal único y definible. El paludismo se originó por la ameba *Plasmodium falciparum*, la tuberculosis por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, la drepanocitosis por una mutación en un gen que codifica para una de las subunidades de la hemoglobina, la poliomielitis por el virus del mismo nombre y el escorbuto por una deficiencia de ácido ascórbico. De este modo, la estrategia para tratar enfermedad o prevenirla podía reducirse a un proceso sencillo de rastrear el agente causal y después idear algún medio para eliminarlo, neutralizar sus efectos o bloquear su ruta de transmisión.

Si bien los modelos simples resultaron eficaces para entender y tratar una amplia gama de enfermedades nutricionales, infecciosas y genéticas, los esfuerzos por identificar agentes causales separados para enfermedades como el cáncer, la enfermedad cardíaca, la obesidad, la diabetes tipo 2 y la enfermedad de Alzheimer han sido vanos. Los orígenes y la progresión de estas últimas enfermedades son de naturaleza **multifactorial,** el producto de la compleja interacción entre la conformación genética de cada individuo, otros factores hereditarios o **epigenéticos,** y factores ambientales, como la dieta, el estilo de vida, toxinas, virus, o bacterias. La resolución de estos enigmas biomédicos multidimensionalmente complejos y sutilmente amorfos demanda la adquisición y el análisis de datos en una escala que yace más allá de la capacidad de los seres humanos para recopilar, organizar y revisar sin ayuda.

El término **bioinformática** se refiere a la aplicación de tecnología de computadora y de robótica para automatizar la recolección, la recuperación y el análisis de datos científicos a una escala masiva. Un objetivo importante de muchos especialistas en bioinformática es desarrollar algoritmos capaces de predecir de manera fiable las estructuras tridimensionales y las propiedades funcionales de las alrededor de un tercio de todas las proteínas codificadas genéticamente categorizadas en la actualidad como "desconocidas" o "hipotéticas". Otro es usar la tecnología de la información para aumentar la rapidez y la eficacia con la cual los médicos pueden diagnosticar y tratar pacientes al proporcionar a los médicos acceso inmediato a información crucial, como historias médicas y datos sobre interacciones farmacológicas. El objetivo de la **biología computacional** es permitir a los investigadores efectuar experimentos en modelos virtuales digitales de moléculas, células, órganos y organismos. Estos modelos virtuales se muestran muy promisorios para mejorar el ritmo y extender el alcance de la investigación biomédica al liberar a los científicos de las restricciones materiales, económicas, de trabajo, temporales y éticas inherentes de la clínica y el laboratorio.

GENÓMICA: UNA AVALANCHA DE INFORMACIÓN

Desde hace mucho tiempo, los médicos y los científicos han entendido que el genoma, la totalidad de información genética de un organismo vivo, representó una rica fuente de información respecto a temas que varían desde metabolismo básico hasta la evolución hacia el envejecimiento. Sin embargo, durante muchos años, el tamaño masivo del genoma humano, 3×10^9 pares de bases de nucleótidos hizo que el análisis global estuviera más allá del alcance de la tecnología disponible para la adquisición y el análisis de información sobre la secuencia de DNA. En 1990, Estados Unidos lanzó un esfuerzo multimillonario, el **Human Genome Project**, para el propósito expreso de desarrollar las técnicas de **alta capacidad de procesamiento** automatizadas, instrumentación y software de recuperación de datos necesario para determinar toda la secuencia de DNA del genoma del *Homo sapiens*.

Completar el primer proyecto del genoma humano requirió 10 años y cientos de millones de dólares; sin embargo, desde entonces, el advenimiento de tecnología de secuenciación de "siguiente generación" ha reducido de manera notoria el tiempo y costo requeridos. En la actualidad, el costo de determinar la secuencia del genoma de un individuo es de menos de $10000; como consecuencia, los científicos ahora están analizando y comparando datos de secuencia de DNA entre poblaciones muestra grandes. Además, han surgido servicios comerciales en los cuales los individuos que poseen suficientes fondos pueden hacer que se determine la secuencia de su propio genoma. A medida que los precios siguen disminuyendo hacia el blanco declarado de la industria de $1 000 dólares por muestra, el número de personas que buscan asesoramiento y cuidado médicos personalizados con base en la información fisiológica, médica y hereditaria revelada por su genoma crecerá a una tasa exponencial.

El Human Genome Project (HGP)

Terminar con éxito el Proyecto Genoma Humano (HGP) representa la culminación de más de seis decenios de logros en biología molecular, genética y bioquímica. A continuación se listan en forma cronológica varios eventos hito que llevaron a la determinación de toda la secuencia del genoma humano.

1944 — Se demuestra que el DNA es el material hereditario
1953 — Se postula el concepto de la doble hélice
1966 — Se resuelve el código genético
1972 — Se crea la tecnología de DNA recombinante
1977 — Surge la tecnología de secuenciación de DNA práctica
1983 — Se mapea el gen del cual depende la enfermedad de Huntington
1985 — Se inventa la reacción en cadena de polimerasa (PCR)
1986 — La secuenciación de DNA se hace automatizada
1986 — Se identifica el gen del cual depende la distrofia muscular de Duchenne
1989 — Se identifica el gen causante de la fibrosis quística
1990 — Se lanza el HGP en EU
1994 — Se completa el mapeo genético humano
1996 — Se establece el primer mapa de genes humanos
1999 — Se inicia la Single Nucleotide Polymorphism Initiative
1999 — Se completa la primera secuencia de un cromosoma humano, el número 22
2000 — Se completa el "primer borrador" del genoma humano
2003 — Se completa la secuenciación del primer genoma humano
2007 — Firmas comerciales ofrecen servicios de secuenciación del genoma personales
2008 —Científicos emprenden la secuenciación de 1 000 genomas individuales para determinar el grado de diversidad genética en los humanos
2010 — Se completó el genoma del hombre de Neandertal
2013 — Se publica el primer mapa integrado de variaciones genéticas entre 1 092 individuos de 14 poblaciones

En la actualidad, el número de organismos eucariontes, procariontes y arqueas cuyos genomas se han secuenciado asciende a muchos cientos. Esta colección incluye más de 40 genomas de mamíferos, como los de una o más especies de pollos, gatos, perros, elefantes, ratas, conejos, leones, tigres, leopardos, cerdos, caballos, chimpancés, gorilas, orangutanes, mamut lanudo, tlacuache, ornitorrinco, delfín nariz de botella, murciélago, panda, koala, ualabí y demonio de Tasmania. Las comparaciones con el genoma del hombre de Neandertal sugieren que hasta 2% del DNA en el genoma de los humanos actuales se originó en hombres de Neandertal o en sus ancestros, aunque la fracción es significativamente más baja en individuos de ascendencia africana. Se han determinado las secuencias de DNA para los genomas de más de 1 000 *Homo sapiens*. El acceso fácil a una biblioteca creciente de secuencias del genoma de organismos que abarcan los tres dominios filogenéticos y a los algoritmos potentes que son un requisito para manipular los datos derivados de estas secuencias, ha surgido como una influencia transformadora sobre la investigación en biología, microbiología, farmacología, evolución y bioquímica.

Genomas y medicina

Hay varias maneras en las cuales la revolución genómica tendrá repercusiones sobre la medicina durante el siglo XXI. La más profunda de éstas será la capacidad para determinar la secuencia del genoma de un individuo para buscar indicadores que predicen su susceptibilidad a enfermedades específicas, sensibilidad a alérgenos potenciales, y receptividad a intervenciones farmacológicas específicas. La implementación de medidas preventivas, como un régimen de dieta personalizado, para prevenir o aminorar problemas de salud potenciales mucho antes de que queden de manifiesto síntomas, debe reducir de manera notoria la aparición y las repercusiones, así como los costos personal y social, de muchas enfermedades. El conocimiento de la secuencia del genoma de un paciente finalmente también puede allanar el camino para usar la terapia génica para prevenir enfermedad, curarla o tratarla. La capacidad para el diagnóstico y el tratamiento de pacientes, guiados por el conocimiento de su conformación genética, un método popularmente denominado "medicina de diseñador", hará que la medicina sea más segura y más eficaz.

La genómica también facilitará el desarrollo de antibióticos y otros fármacos. Al comparar los genomas de cepas patógenas y no patógenas de un microorganismo particular, los genes que tienen probabilidades de codificar para determinantes de virulencia pueden ponerse de relieve en virtud de su presencia sólo en la cepa virulenta. De modo similar, la comparación de los genomas de un agente patógeno con su huésped puede identificar genes singulares para el primero. Los fármacos que se dirigen a los productos proteínicos de los genes específicos para agente patógeno deben, en teoría, producir pocos efectos secundarios o ninguno para el huésped infectado.

Secuenciación de exoma

La "secuenciación de exoma" ha surgido como una alternativa para la secuenciación de todo el genoma como un medio para diagnosticar enfermedades genéticas raras o crípticas. El exoma consta de los segmentos de DNA, llamados exones, que codifican para las secuencias de aminoácidos de proteínas (capítulo 36). Dado que los exones comprenden sólo alrededor de 1% del genoma humano, el exoma representa un blanco mucho más pequeño y más manejable que el genoma completo. La comparación de secuencias de exoma ha identificado genes que albergan mutaciones de las cuales depende una lista creciente de enfermedades que incluye retinitis pigmentosa, y los síndromes de Freeman-Sheldon, de Sensenbrenner, de Miller, de Schinzel-Giedion, y de Kabuki, así como variantes de ataxia espinocerebelosa, enfermedad inflamatoria intestinal, osteogénesis imperfecta, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, retraso mental, y esclerosis lateral amiotrófica.

Desafíos potenciales de la medicina de diseñador

Mientras que la "medicina de diseñador" basada en el genoma promete ser muy eficaz, también confronta a la humanidad con profundos desafíos en las áreas de ética, derecho y política pública. ¿Quién posee esta información y controla el acceso a la misma? ¿Una compañía de seguros de vida o de seguro de gastos médicos puede negar cobertura a un individuo con base en los factores de riesgo inferidos a partir de su secuencia de genoma? ¿Un empleador potencial tiene el derecho de saber la conformación genética de un empleado actual o potencial? ¿Los futuros cónyuges tienen el derecho de saber los factores de riesgo genéticos de sus prometidos? ¿Dónde yace la frontera entre las aplicaciones médicas y electivas de la terapia génica? Otros problemas comprenden estándares para determinar el grado al cual los datos de investigación respecto a polimorfismos genéticos específicos pueden interpretarse con seguridad y fiabilidad, y actuar con base en los mismos. Por ejemplo, ¿qué predicciones deben hacerse si un paciente manifiesta una mutación en un gen en el cual se ha mostrado que las mutaciones de *otros* nucleótidos tienen efectos perjudiciales? ¿Qué pasa si los únicos datos disponibles respecto a la mutación de un gen particular se basan en observaciones generadas en un organismo modelo como *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta), *Caenorhabditis elegans* (nemátodo), o ratones? Irónicamente, la resolución de estos problemas puede resultar un proceso más prolongado y laborioso que la determinación de la primera secuencia del genoma humano.

BIOINFORMÁTICA

Explota las formidables capacidades de almacenamiento y procesamiento de información de la computadora para crear recursos para la recolección, la compaginación, la recuperación y el análisis de datos biológicos a escala masiva. Es posible tener acceso a muchos recursos bioinformáticos (véase más adelante) mediante Internet, con alcance y repercusiones mundiales. El objetivo central de un proyecto de bioinformática típico es montar toda la información disponible relevante para un tema particular en una ubicación única, lo que suele denominarse una **biblioteca** o **base de datos**, en un formato uniforme que haga que los datos se presten a manipulación y análisis por medio de algoritmos de computadora.

Bases de datos de bioinformática

El tamaño y las capacidades de las bases de datos de bioinformática pueden variar ampliamente dependiendo del alcance y la naturaleza de sus objetivos. La base de datos PubMed compila citas de todos los artículos publicados en miles de revistas dedicadas a la investigación biomédica y biológica. En la actualidad, PubMed contiene más de 24 millones de citas. En contraste, la RNA Helicase Database se confina a la secuencia, estructura y función bioquímica y celular de una sola familia de enzimas: las RNA helicasas.

Retos de la construcción de bases de datos

La construcción de una base de datos integral y fácil de usar plantea muchos desafíos. En primer lugar, la información biomédica viene en una amplia variedad de formas. Por ejemplo, la información sobre codificación en un genoma, aun cuando es voluminosa, está compuesta de secuencias lineales simples de cuatro bases de nucleótidos. Si bien el número de residuos aminoácidos que define la estructura primaria de una proteína es pequeño en comparación con el número de pares de bases en un genoma, una descripción de la estructura de rayos X de una proteína requiere que la localización de cada átomo se especifique en un espacio tridimensional. En segundo lugar, el diseñador debe anticipar en forma correcta la manera en la cual los usuarios pueden desear investigar o analizar la información dentro de una base de datos e idear algoritmos para manejar estas variables. Por ejemplo, incluso en la tarea en apariencia simple de investigar una base de datos de genes, por lo general se emplean, solos o en diversas combinaciones, criterios tan diversos como el nombre del gen, el nombre de la proteína para la cual codifica, la función biológica del producto del gen, una secuencia de nucleótidos dentro del gen, una secuencia de aminoácidos dentro de la proteína para la cual codifica, el organismo en el cual está presente o el nombre del investigador que determinó la secuencia de ese gen.

LA EPIDEMIOLOGÍA ESTABLECIÓ EL POTENCIAL MÉDICO DEL PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN

El poder de la investigación biomédica básica reside en la capacidad de los científicos de laboratorio para manipular blancos de investigación homogéneos, bien definidos, en circunstancias cuidadosamente controladas. La capacidad para variar de

manera independiente las características cualitativas y cuantitativas de variables tanto blanco como de entrada permite determinar relaciones entre causa y efecto de una manera directa y fiable. Sin embargo, estas ventajas se obtienen al emplear organismos "modelo", como ratones o líneas de células de ser humano cultivadas como sustitutos para los pacientes humanos que representan los blancos finales de esta investigación y los beneficiarios de la misma. Los animales de laboratorio no siempre reaccionan como lo hace el *Homo sapiens*; una placa de fibroblastos, o de células de riñón o de otros tipos de células en cultivo, tampoco replica la increíble complejidad de un ser humano.

Desde hace mucho tiempo la observación meticulosa de la conducta en el mundo real ha resultado ser una fuente de importante información biomédica. Por ejemplo, Hipócrates notó que si bien ciertas enfermedades **epidémicas** aparecían de una manera esporádica, las enfermedades **endémicas** como el paludismo mostraban una clara asociación con ubicaciones, grupo de edad, etc., particulares. **Epidemiología** es la rama de las ciencias biomédicas que emplea métodos bioinformáticos para extender la capacidad para identificar factores que contribuyen a la salud de seres humanos o que la alteran, y aumentar la exactitud con la cual es posible hacerlo, por medio del estudio de poblaciones del mundo real.

Primeros datos epidemiológicos del cólera

En uno de los primeros estudios epidemiológicos registrados, realizado por el Dr. John Snow, se empleó análisis geoespacial simple para rastrear la fuente de un brote de cólera. Las epidemias de cólera, tifo y otras enfermedades infecciosas eran relativamente comunes en las condiciones de hacinamiento y poco higiénicas del Londres del siglo XIX. Al ubicar en un mapa los lugares donde residían las víctimas, Snow logró rastrear la fuente del contagio a la contaminación de una de las bombas públicas que abastecía de agua potable a los ciudadanos (**figura 10-1**). Lamentablemente, la capacidad limitada de la realización de manual de cálculos o de gráficos, hizo que el éxito de los análisis como los de Snow dependiera de manera fundamental de la elección de la hipótesis de trabajo usada para seleccionar las variables que se iban a medir y a procesar. De este modo, si bien los londinenses del siglo XIX también reconocieron que los merceros tenían propensión particular a mostrar conducta errática e irracional (p. ej., como lo indica el dicho "tan loco como un sombrerero"), transcurriría casi un siglo antes de que la causa se rastreara a los compuestos de mercurio usados para preparar el fieltro a partir del cual se fabricaban los sombreros.

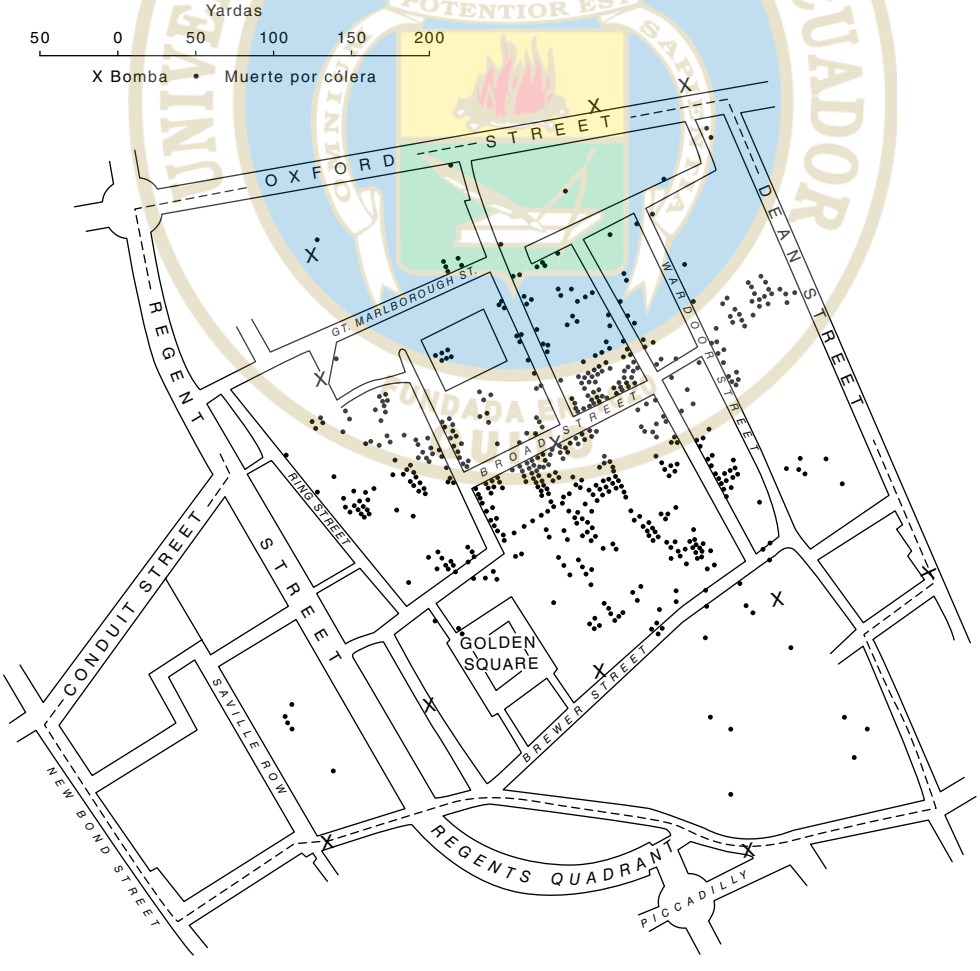


FIGURA 10-1 Esta versión del mapa dibujado por el Dr. John Snow compara la ubicación de las residencias de víctimas de una epidemia de cólera en Londres en 1854 (puntos) con las ubicaciones de las bombas que abastecían agua potable (X). El agua contaminada de la bomba en Broad Street, que se encuentra aproximadamente en el centro de la agrupación de víctimas, resultó ser la fuente de la epidemia en este vecindario.

Repercusiones de la bioinformática sobre análisis epidemiológicos

A medida que el proceso de análisis de datos se ha automatizado, la sofisticación y la tasa de éxito de análisis epidemiológicos han aumentado en consecuencia. El Framingham Heart Study, que durante más de seis décadas ha dado seguimiento a los antecedentes personales y médicos de más de 5 000 individuos que viven en Framingham, MA, y en sus alrededores, así como a sus descendientes, ha sido esencial en la identificación de factores de riesgo para enfermedad cardiovascular. Hoy, algoritmos de computadora complejos permiten a los investigadores evaluar la influencia de un rango amplio de parámetros relacionados con la salud cuando se rastrea la identidad y la fuente o se reconstruye la transmisión de una enfermedad o padecimiento: estatura; peso; edad; género; índice de masa corporal; dieta; grupo étnico; historial médico; profesión; consumo de drogas, alcohol o tabaco; ejercicio; presión arterial; hábitat; estado marital; tipo de sangre; concentración sérica de colesterol, etc. Tiene igual importancia que la bioinformática moderna tal vez pronto permita a los epidemiólogos analizar minuciosamente las identidades e interacciones de los múltiples factores que subyacen a enfermedades complejas, como el cáncer o la enfermedad de Alzheimer o ébola.

La acumulación continua de secuencias de genoma y exoma de seres humanos individuales ha introducido una poderosa nueva dimensión a los muchos factores biológicos, ambientales y conductuales a comparar y contrastar con el historial médico de cada persona. Uno de los primeros frutos de estos estudios ha sido la identificación de los genes de los cuales dependen algunos de los más de 3 000 trastornos mendelianos conocidos o sospechados, cuyas anormalidades genéticas causales quedan por rastrear. La capacidad para evaluar contribuciones de, y las interacciones entre, la constitución genética, conducta, ambiente, dieta y estilo de vida de un individuo, se muestra promisoria de finalmente revelar las respuestas a la antigua pregunta de por qué algunas personas muestran mayor vitalidad, aguante, longevidad y resistencia a enfermedades que otras —en otras palabras, las fuentes raíz de la salud y el bienestar—.

BIOINFORMÁTICA Y RECURSOS GENÓMICOS

El gran conjunto de bases de datos que se han creado para el montaje, la anotación, el análisis y la distribución de datos biológicos y biomédicos refleja el alcance y la variedad de la investigación molecular, bioquímica, epidemiológica y clínica contemporánea. Más adelante se consideran UniProt, GenBank y la Protein Database (PDB), las cuales representan tres de las bases de datos bioinformáticas más antiguas y ampliamente utilizadas. Cada una complementa a la otra, al centrarse en un aspecto diferente de la estructura macromolecular.

UniProtKB

La UniProt Knowleldgebase, UniProtKB, es patrocinada conjuntamente por el Swiss Institute of Bioinformatics y el European Bioinformatics Institute. El objetivo declarado de la UniProtKB es "proporcionar a la comunidad científica un recurso integral, de alta calidad y accesible gratuitamente de información sobre secuencia y estructural de proteínas"; está organizada en dos secciones. Swiss-Prot contiene entradas cuyas funciones asignadas, estructura de dominio, modificaciones postraduccionales, etc., se han verificado manualmente, en su mayor parte por medio de búsquedas de datos empíricos a partir de la literatura científica, y examen de comparaciones de secuencias múltiples por expertos. Por otro lado, TrEMBL contiene secuencias de proteínas empíricamente determinadas y derivadas de genoma, cuyas funciones potenciales se han asignado, o anotado, automáticamente —sólo con base en algoritmos de computadora—. Así, mientras que la TrEMBL en la actualidad incluye más de 80 millones de entradas, Swiss-Prot contiene poco más de 500 000.

GenBank

La meta del GenBank, la base de datos de secuencia genética, de los National Institutes of Health (NIH), es recolectar y almacenar todas las secuencias de nucleótidos conocidas y sus traducciones en una forma fácil de buscar. GenBank, establecido en 1979 por Walter Goad de Los Alamos National Laboratory, en la actualidad es mantenido por el National Center for Biotechnology Information en los NIH. GenBank constituye una de las piedras angulares de la International Sequence Database Collaboration, consorcio que incluye la DNA Database of Japan y el European Molecular Biology Laboratory.

PDB

La Protein Database RCSB es un depositario de las estructuras tridimensionales de proteínas, los polinucleótidos y otras macromoléculas biológicas. La PDB contiene más de 95 000 estructuras tridimensionales para proteínas, así como proteínas unidas con sustratos, análogos de sustrato, inhibidores u otras proteínas. El usuario puede rotar estas estructuras libremente en el espacio tridimensional, poner de relieve aminoácidos específicos, y seleccionar a partir de diversos formatos, como llenado de espacio, listones, esqueleto, etc. (capítulos 5, 6 y el texto que sigue).

Los SNP y SNP marca

Aun cuando la secuencia del genoma de cualesquiera dos sujetos es 99.9% idéntica, el DNA humano contiene alrededor de 10 millones de sitios en los cuales los individuos difieren por una base de nucleótido único; estos sitios se llaman **polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)**. Cuando los grupos SNP localizados en el mismo cromosoma se heredan juntos en bloques, el modelo de SNP en cada bloque se llama **haplotipo**. Al comparar las distribuciones de haplotipos en grupos de individuos que difieren en alguna característica fisiológica, como la susceptibilidad a una enfermedad, los científicos biomédicos pueden identificar SNP que muestran vínculo con rasgos fenotipos específicos. Este proceso se puede facilitar al enfocarse en **SNP marca**, subgrupo de SNP en un bloque dado suficiente para proporcionar un marcador singular para un haplotipo determinado. Las regiones seleccionadas a continuación quedan sujetas a estudio más detallado para identificar las variaciones genéticas específicas que contribuyen a una enfermedad o respuesta fisiológica específica.

HapMap

En 2002, científicos de EU, Canadá, China, Japón, Nigeria y el Reino Unido lanzaron el **mapa de haplotipo** International **Haplotype Map (HapMap) Project**, esfuerzo integral por identificar SNP relacionados con enfermedades frecuentes de humanos y respuestas diferenciales a compuestos farmacéuticos. El objetivo a largo plazo del proyecto es proporcionar un diagnóstico más temprano y más exacto de factores de riesgo genéticos potenciales que lleva a prevención mejorada y manejo más eficaz de pacientes. El conocimiento del perfil genético de un sujeto también se empleará para guiar la selección de medicamentos o vacunas seguros y más eficaces, proceso llamado **farmacogenómica**. Estos marcadores genéticos también proporcionarán marcas con las cuales identificar y rastrear genes específicos a medida que los científicos tratan de aprender más acerca de los procesos cruciales de la herencia y la selección genéticas.

ENCODE

La identificación de todos los *elementos funcionales* del genoma extenderá mucho la comprensión de los eventos moleculares que fundamentan el desarrollo, la salud y la enfermedad de humanos. Para abordar este objetivo, el National Human Genome Research Institute (NHGRI) inició el **ENCODE (*Enc*yclopedia *O*f *D*NA *E*lements) Project**. Con sede en la University of California en Santa Cruz, ENCODE es un esfuerzo colaborativo que combina métodos de laboratorio y computacionales para identificar cada elemento funcional en el genoma humano. Investigadores del consorcio con diversos trasfondos y experiencia colaboran en la creación y evaluación de nuevas técnicas, tecnologías y estrategias de alta capacidad de procesamiento para abordar las deficiencias actuales en la capacidad para identificar elementos funcionales.

Hacia 2013, ENCODE había analizado 147 tipos de células humanas con el uso de diversos métodos para identificar, o **glosar**, la función. Éstos incluyen mapeo de sitios de metilación de DNA como un indicador putativo de control regulador, evaluación de metilación de histona local y sensibilidad a hidrólisis por desoxirribonucleasas como indicadores de actividad transcripcional (capítulo 35), y sondeo para sitios de unión a factor de transcripción usando un sistema reportero luciferasa. Con base en estos indicadores circunstanciales, se ha estimado que alrededor de 80% del genoma humano, incluso la mayor parte del DNA "basura" no codificador, es funcionalmente activo en uno o más tipos de células.

Entrez Gene

***Entrez* Gene** es una base de datos mantenida por el National Center for Biotechnology Information (NCBI), proporciona información variada acerca de genes humanos individuales. La información comprende la secuencia del genoma en el gen y alrededor del mismo, la estructura del gen (fronteras de exón-intrón), la secuencia de los mRNA producidos a partir del gen, y cualesquiera fenotipos relacionados con una mutación dada del gen en cuestión. *Entrez* Gene también lista (cuando se conoce) la función de la proteína codificada, y las repercusiones de polimorfismos de un solo nucleótido conocidos en la región codificadora.

dbGAP

db-GAP, la **Database of Genotype and Phenotype**, es una base de datos del NCBI que complementa a *Entrez* Gene. dbGAP compila los resultados de investigación sobre los enlaces entre genotipos y fenotipos específicos. Para proteger datos clínicos confidenciales, la información contenida en dbGAP está organizada en secciones de acceso abierto y de acceso controlado. El acceso a datos confidenciales exige que el usuario solicite autorización a un comité de acceso a datos.

Bases de datos adicionales

Otras bases de datos que tratan de genética y salud humanas son **OMIM**, Online Mendelian Inheritance in Man, la **HGMD,** Human Gene Mutation Database, el **Cancer Genome Atlas** y **GeneCards**, que trata de reunir cualquier información importante acerca de un gen dado a partir de bases de datos de todo el mundo, para crear una "ficha" única y completa para cada gen.

BIOLOGÍA COMPUTACIONAL

Su objetivo primario es crear modelos de computadora que apliquen principios físicos, químicos y biológicos para reproducir la conducta de moléculas y procesos biológicos. A diferencia de la bioinformática, cuyo principal enfoque es la reunión y evaluación de los datos existentes, la biología computacional es de naturaleza experimental y exploradora. Al efectuar experimentos y análisis virtuales (*"in silico"*), lo cual significa realizados en computadora o a través de una simulación de computadora, la biología computacional ofrece la promesa de acelerar mucho el ritmo y la eficiencia de los descubrimientos científicos.

Los biólogos computacionales están intentando crear modelos predictivos que permitirán 1) determinar de manera directa la estructura tridimensional de una proteína a partir de su secuencia primaria, 2) determinar la función de proteínas desconocidas a partir de su secuencia y estructura, 3) investigar inhibidores potenciales de una proteína *in silico,* y 4) construir células virtuales que reproduzcan la conducta y predigan las respuestas de sus homólogos vivos a agentes patógenos, toxinas, dieta y fármacos. La creación de algoritmos de computadora que imiten la conducta de proteínas, enzimas, células, etc., es promisoria en cuanto al incremento de la rapidez, eficiencia y seguridad de la investigación biomédica. La biología computacional también permitirá a los científicos llevar a cabo experimentos *in silico*, cuyo alcance, peligro o naturaleza los haga inaccesibles o inapropiados para métodos de laboratorio o clínicos convencionales.

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS MEDIANTE HOMOLOGÍA

Un método importante para la identificación, también llamada **anotación**, de proteínas y productos de gen nuevos compara las secuencias de proteínas nuevas con las de proteínas cuya función o estructuras se han determinado. Dicho de modo sencillo, las búsquedas de homología y las comparaciones de secuencia múltiple operan con base en el principio de que las proteínas que desempeñan funciones similares compartirán dominios conservados u otras características de secuencias o **motivos**, y viceversa

Idioma	Palabra	Alineación
Inglés	PHYSIOLOGICAL	PHYSIOLOGI-CAL
Francés	PHYSIOLOGIQUE	PHYSIOLOGI-QUE
Alemán	PHYSIOLOGISCH	PHYSIOLOGISCH
Holandés	FYSIOLOGISCH	F-YSIOLOGISCH
Español	FISIOLÓGICO	F-YSIOLOGI-CO
Polaco	FIZJOLOGICZNY	F-IZJOLOGI-CZNY

FIGURA 10-2 Representación de una alineación de secuencia múltiple. Los idiomas evolucionan de un modo que imita la manera en que lo hacen los genes y las proteínas. Aquí se muestra la palabra "*physiological*" del inglés en varios idiomas. La alineación demuestra sus características conservadas. Las identidades con la palabra en inglés se muestran en color rojo oscuro; las similitudes lingüísticas en azul oscuro. Los algoritmos de alineación de secuencia múltiple identifican letras de nucleótido y aminoácidos conservadas en DNA, RNA y polipéptidos de un modo análogo.

(**figura 10-2**). De los muchos algoritmos creados para este propósito, el más ampliamente usado es el BLAST y sus derivados.

BLAST

Los orígenes del **BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)** y otros algoritmos de comparación/alineación de secuencia se remontan a los esfuerzos de los primeros biólogos moleculares por determinar si las similitudes observadas en la secuencia entre proteínas que desempeñaban funciones metabólicas paralelas eran indicativas de cambio progresivo desde una proteína ancestral común. La principal pregunta evolutiva abordada fue si las similitudes reflejaban 1) descendencia desde una proteína ancestral común (**evolución divergente**) o 2) la selección independiente de un mecanismo común para satisfacer alguna necesidad celular específica (**evolución convergente**), como se anticiparía si una solución particular fuera abrumadoramente superior a las alternativas. El cálculo del número mínimo de cambios de nucleótido necesario para interconvertir isoformas de proteína putativas permite inferir si las similitudes y diferencias muestran o no un modelo que indique cambio progresivo desde un origen compartido.

Con el tiempo, el BLAST ha evolucionado hacia una familia de programas optimizados para abordar necesidades y conjuntos de datos específicos. De esta manera, **blastp** compara una secuencia de consulta de *aminoácidos* contra una base de datos de secuencia de *proteína*, **blastn** compara una secuencia de consulta de *nucleótido* contra una base de datos de secuencia de *nucleótido*, **blastx** compara una secuencia de consulta de *nucleótidos* traducida en todos los marcos de lectura contra una base de datos de secuencia de *proteína* para revelar productos de traducción potenciales, **tblastn** compara una secuencia de consulta de *proteína* contra una base de datos de secuencia de *nucleótido* traducidos dinámicamente en los seis marcos de lectura, y **tblastx** compara las traducciones de seis armazones de una secuencia de consulta de *nucleótido* contra las traducciones de seis armazones de una base de datos de secuencia de *nucleótido.* Al contrario de los programas de alineación de secuencia múltiple que se fundamentan en alineaciones *globales,* en los algoritmos de **BLAST** se recalcan regiones de alineación *local* para detectar vínculos entre secuencias con sólo regiones de similitud aisladas. Este método proporciona rapidez y sensibilidad aumentada para relaciones de secuencia distantes. Las secuencias de entrada o "consulta" se fragmentan hacia "palabras" (tamaño por omisión 11 para nucleótidos, 3 para aminoácidos); entonces, los aciertos de palabra a bases de datos se extienden en ambas direcciones.

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS "DESCONOCIDAS"

Una porción considerable (30-50%) de los genes descubiertos mediante proyectos de secuenciación del genoma codifica para polipéptidos "desconocidos" o hipotéticos, para los cuales se carece de homólogos de función conocida. Especialistas en bioinformática están creando instrumentos para permitir a científicos deducir la estructura tridimensional y la función de proteínas crípticas directamente a partir de sus secuencias de aminoácidos. La capacidad para generar estructuras e inferir la función *in silico* promete acelerar de modo importante la identificación de proteína y proporcionar información acerca del mecanismo mediante el cual las proteínas se pliegan. Este conocimiento ayudará a entender los mecanismos subyacentes de diversas enfermedades que dependen del plegado de proteínas y ayudará a los ingenieros moleculares a diseñar nuevas proteínas para efectuar funciones nuevas.

El código de plegamiento

La comparación de proteínas cuyas estructuras tridimensionales pueden revelar patrones que enlazan características de secuencia primaria específicas con estructuras primaria, secundaria y terciaria —lo que a veces se llama el código de plegamiento—. En los primeros algoritmos se usó la frecuencia con la cual aminoácidos individuales ocurrieron en hélices alfa, hojas beta, giros y asas para predecir el número y la ubicación de estos elementos dentro de la secuencia de un polipéptido, conocida como topografía de estructura secundaria. Al extender este proceso, por ejemplo, al sopesar las repercusiones de interacciones hidrofóbicas en la formación del centro de la proteína, se están creando algoritmos de notoria fiabilidad predictiva. Con todo, si bien los programas actuales tienen buen desempeño en la generación de las conformaciones de proteínas constituidas por dominios únicos, aún es problemático proyectar la estructura probable de proteínas de membrana y las compuestas de múltiples dominios.

Relación de la estructura tridimensional con la función

Los científicos también siguen buscando características recurrentes de estructura tridimensional de proteína que se correlacionen con funciones fisiológicas específicas, como la unión de un sustrato particular u otro ligando. La representación llenadora de espacio de la enzima HMG-CoA reductasa y su complejo con el medicamento lovastatina (**figura 10-3**) proporciona cierta perspectiva acerca de los desafíos inherentes a la identificación de sitios de unión a ligando a partir de cero. Donde se puede determinar o predecir una estructura tridimensional completa, la superficie de la proteína se puede escanear respecto a los tipos de bolsas y hendeduras indicativos de sitios de unión probables para sustratos, efectores alostéricos, etc., mediante cualquiera de diversos métodos, como el rastreo de su superficie con esferas

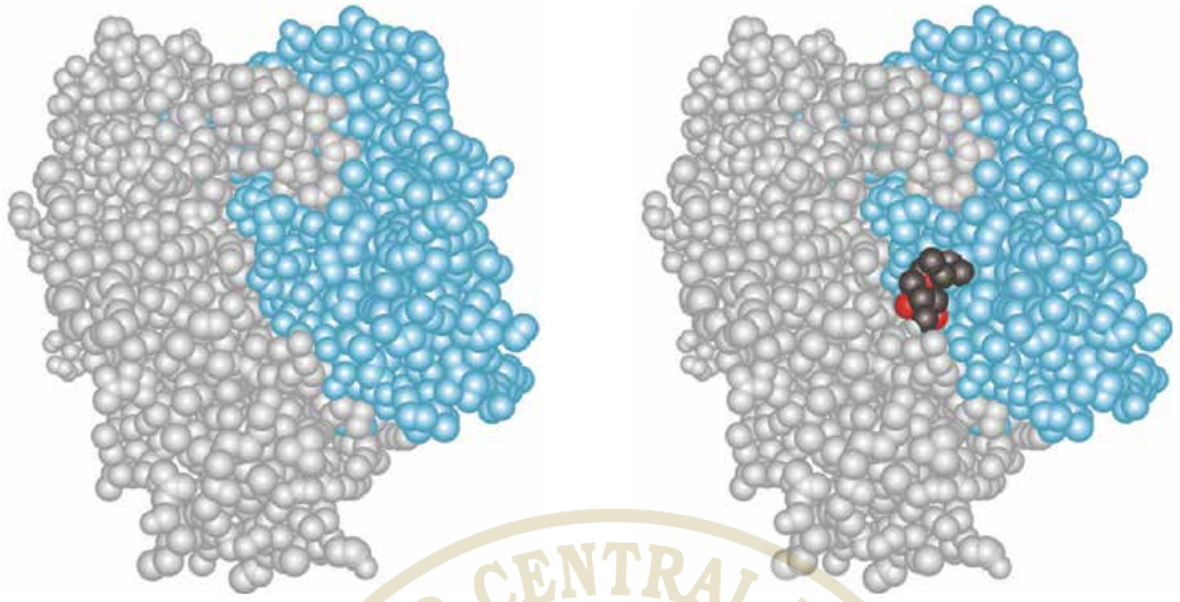


FIGURA 10-3 Representaciones de llenado de espacio de la HMG-CoA reductasa homodimérica de *Pseudomonas mevalonii* con (derecha) y sin (izquierda) el medicamento estatina lovastatina unido. Cada átomo está representado por una esfera del tamaño de su radio de Van der Waals. Las dos cadenas polipeptídicas están resaltadas con colores gris y azul. Los átomos de carbono de la lovastatina se muestran con color negro, y los átomos de oxígeno, en rojo. Compare este modelo con las representaciones de esqueleto de proteínas mostradas en los capítulos 5 y 6. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1t02).

de una dimensión particular (**figura 10-4**). Los mapas de superficie generados con el programa Graphical Representation and Analysis of Surface Properties, comúnmente denominados **diagramas GRASP**, ponen de relieve las ubicaciones de grupos funcionales neutros, con carga negativa y con carga positiva sobre la superficie de una proteína (**figura 10-5**) para inferir un cuadro más detallado de la biomolécula que se une o "acopla" en ese sitio. La estructura predicha de los ligandos que se unen a una proteína desconocida, junto con otras características estructurales y motivos de secuencia, a continuación pueden proporcionar a los científicos los indicios necesarios para hacer una "conjetura educada" respecto a su o sus funciones biológicas.

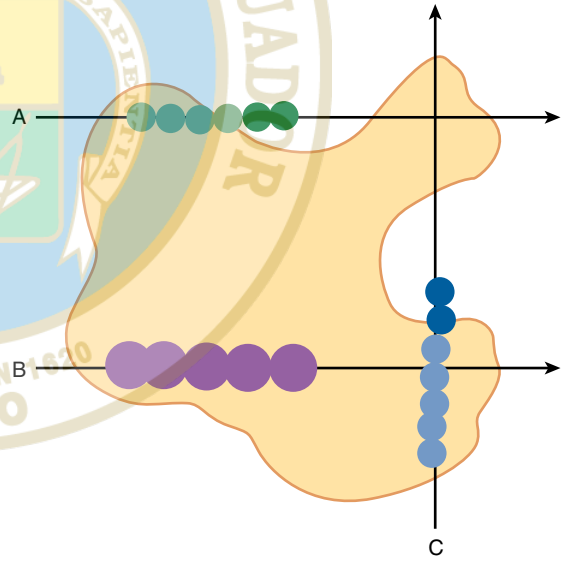


FIGURA 10-4 Representación simplificada de un programa de predicción de sitio de ligando. Los programas de predicción de sitio de ligando, como POCKET, LIGSITE, o Pocket-Finder, convierten la estructura tridimensional de una proteína en un juego de coordenadas para los átomos que la componen. Un corte bidimensional del espacio lleno por estas coordenadas se presenta como un contorno de forma irregular (amarillo). A continuación se introduce repetidas veces una sonda redonda por estas coordenadas a lo largo de líneas que tienen una trayectoria paralela a cada uno de los tres ejes de coordenadas (A, B, C). Los círculos con sombreado claro representan posiciones de la sonda donde su radio se superpone con uno o más átomos en el juego de coordenadas cartesianas. Los círculos con sombreado oscuro representan posiciones donde ninguna coordenada de átomo de proteína cae dentro del radio de la sonda. Para que se reúnan las características necesarias de una bolsa o hendidura dentro de la proteína, y no sólo espacio abierto fuera de esta última, la sonda debe encontrar finalmente átomos de proteína que yacen en el otro lado de la abertura (C).

Iniciativa de función de enzimas

Según se informa, hacia 2014, la base de datos UniProt de secuencias de proteína contenía 84 millones de entradas. Si bien el número es impresionante, la utilidad de esta biblioteca de información de secuencia está seriamente circunscrita por la falta de evidencia experimental directa que documente capacidades funcionales de todas estas proteínas, salvo una pequeña porción de las mismas. De este modo, en la mayor parte de los casos las funciones proyectadas de estas proteínas se han inferido al buscar homólogos estructurales. Mientras que extrapolar la función a partir de la forma es en teoría sensato, en muchos casos el homólogo de secuencia más cercano también es una proteína cuya(s) función(es) se ha(n) inferido a partir de un homólogo previo. Por ende, la relación entre una proteína nueva y una cuyas propiedades funcionales se han verificado experimentalmente puede ser bastante distinta y estar propensa a error. Además, muchas de las proteínas cuyas secuencias se han deducido a partir de secuenciación del genoma no poseen incluso un homólogo distante de función conocida. Establecida en 2010, el objetivo de la Enzyme

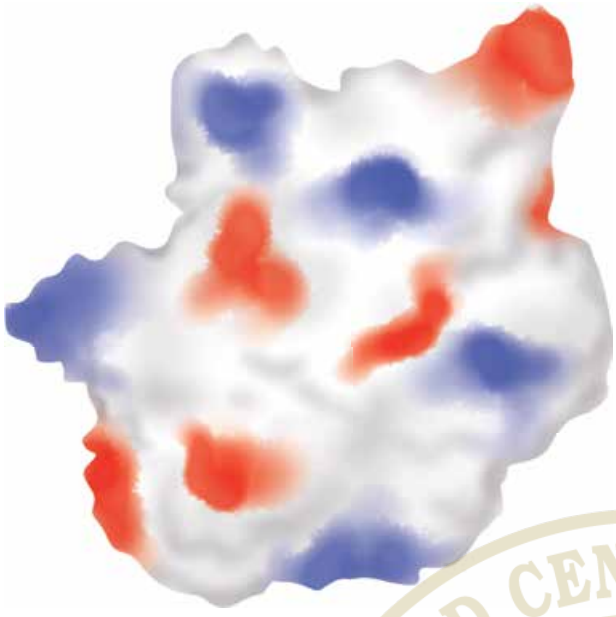


FIGURA 10-5 Representación de un diagrama GRASP que indica las características topográficas electrostáticas de una proteína. Se muestra una representación de llenado de espacio de una proteína hipotética. Las áreas sombreadas de color rojo indican la presencia de cadenas laterales de aminoácidos u otras porciones sobre la superficie de la proteína que se predice que portan una carga negativa a pH neutro. El color azul indica la presencia de grupos con carga positiva predichos. El color blanco denota áreas que se predice que son neutras desde el punto de vista electrostático.

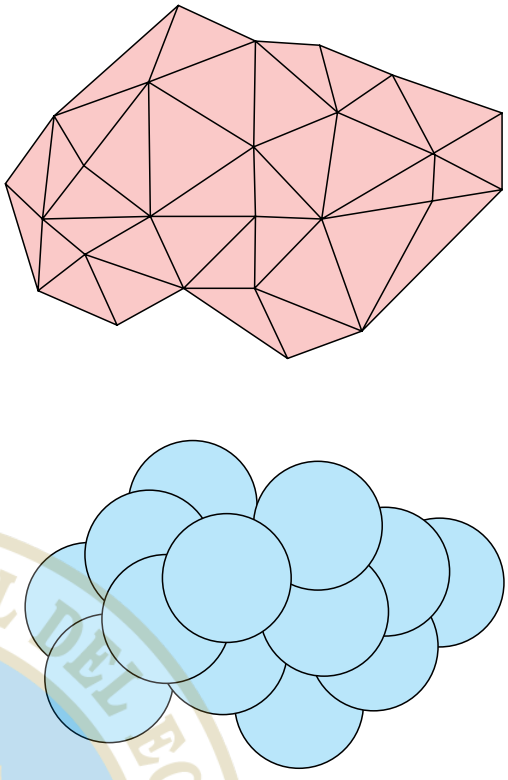


FIGURA 10-6 Representaciones digitales simplificadas de la topografía de superficie de una molécula usando paneles triangulares o un montaje de esferas.

Function Initiative, un consorcio de ≈ 80 científicos que laboran en nueve instituciones académicas norteamericanas, es desarrollar una nueva generación de herramientas bioinformáticas y computacionales más poderosas y fiables para predecir la función a partir de la secuencia y la estructura de proteína.

DISEÑO DE FÁRMACOS AUXILIADO POR COMPUTADORA

El objetivo del **diseño de fármacos auxiliado por computadora (CADD)** es desarrollar métodos mediante modelado por computadora para identificar blancos farmacológicos potenciales a fin de reducir de manera notoria el esfuerzo invertido en métodos de investigación de laboratorio costosos y que consumen mucho tiempo. Si bien esto no puede eliminar la necesidad de pruebas y análisis empíricos, puede estrechar su enfoque varios cientos o miles de veces a un puñado de "compuestos líderes" promisorios.

Investigación de bibliotecas virtuales

Para proteínas de estructura tridimensional conocida, en los métodos de acoplamiento molecular se emplean programas que intentan adaptar una serie de "clavijas" de ligando potenciales en un sitio de unión designado o "agujero" en una plantilla de proteína. A fin de identificar ligandos óptimos, los programas de acoplamiento deben tomar en cuenta formas que coinciden, así como la presencia y la posición de grupos hidrofóbicos, hidrofílicos y cargados complementarios. El primer paso en este proceso es construir una representación digital de la proteína que puede manipularse desde el punto de vista computacional sin exceder la memoria y la capacidad de procesamiento de información de la computadora huésped. Los métodos para lograr esto comprenden representar la proteína como un conjunto de esferas, o al dividir su superficie en segmentos geométricos (**figura 10-6**). A continuación se asignan a cada superficie parámetros matemáticos que resumen las características estéricas y físico-químicas de la porción correspondiente de la proteína. El programa de computadora a continuación intenta acoplar representación digital similar de ligandos potenciales, con cálculo matemático del grado de adaptación al ingresar los parámetros en una fórmula llamada una **función de energía potencial** que integra las interacciones de atracción y de repulsión entre ellas.

Una estrategia alternativa para investigar una biblioteca digitalizada de compuestos conocidos es usar el sitio blanco en la proteína como una plantilla para construir *de novo* un ligando complementario. En este proceso, la cavidad digitalizada primero se llena con esferas para definir el espacio estérico disponible para el ligando. A continuación, grupos funcionales químicos proyectados para que interactúen de manera favorable con el enlace de hidrógeno cargado adyacente, y otros grupos funcionales sobre la superficie de la proteína, se colocan en puntos clave dentro del modelo estérico. Por último, la computadora busca maneras químicamente plausibles de enlazar estos grupos clave para generar un ligando candidato (**figura 10-7**).

Las afinidades de unión de los inhibidores seleccionados con base en estudios de acoplamiento tempranos fueron desalentadoras. Un factor contribuidor fue la dificultad de asignar

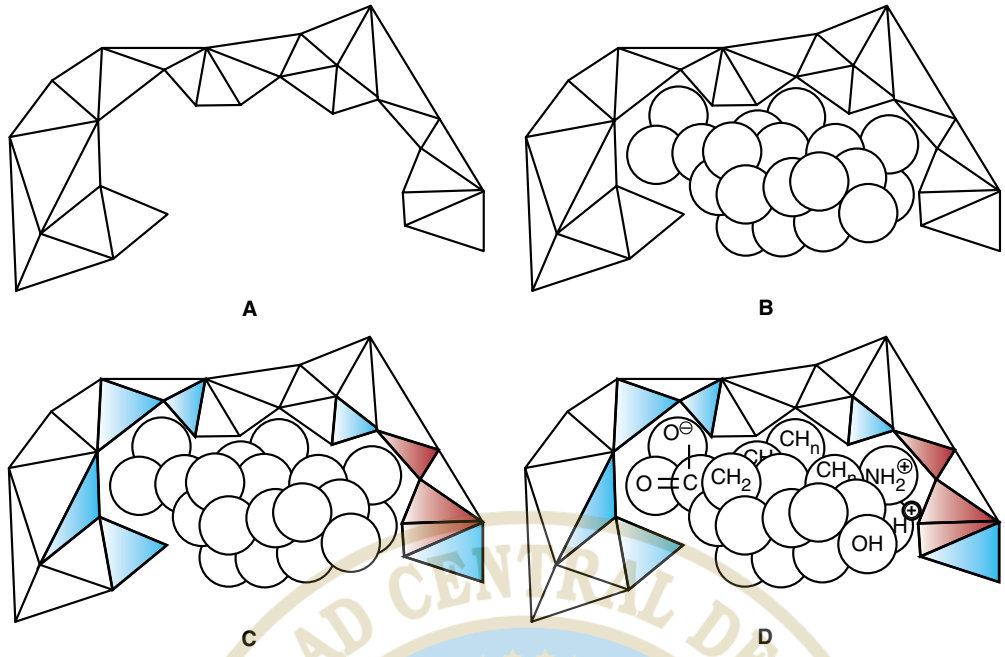


FIGURA 10-7 **Ingeniería inversa de un ligando mediante modelado por computadora *in silico*.** El panel A muestra una representación digital de un sitio de unión a ligando prospectivo. En el panel B, el sitio de unión está lleno por unidades esféricas que definen los límites estéricos para un ligando prospectivo. En el panel C, las características físico-químicas básicas del sitio de unión están representadas usando blanco para superficies hidrofóbicas, rojo para superficies con carga negativa, azul para superficies con carga positiva, y verde para superficies hidrofílicas no cargadas. El panel D muestra la posición de grupos funcionales que coinciden propuestos para un ligando, como carboxilatos, grupos amino y porciones de hidrocarburo (CH_n). El proceso se completa al insertar átomos y enlaces adicionales para enlazar uno con otro los grupos clave para formar una molécula única.

y sopesar las interacciones estéricas, electrostáticas y de enlaces de hidrógeno usadas en las representaciones digitales de ligandos y proteínas. El segundo surgió a partir de la naturaleza rígida de los modelos de primera generación, que los hacía incapaces de replicar los cambios conformacionales que ocurren en el ligando y la proteína como una consecuencia de unión y catálisis, un fenómeno denominado "ajuste inducido" (capítulo 7). Sin embargo, imbuir flexibilidad conformacional a los modelos digitales de proteínas y ligandos, si bien es técnicamente factible, requiere de poder de computación masivo. De este modo, han evolucionado métodos híbridos en los que se emplea un grupo, o montaje, de plantillas que representan conformaciones de la proteína un poco diferentes (**figura 10-8**) y montajes de conformadores de ligando (**figura 10-9**) o ligandos en los cuales sólo se permite que algunos enlaces seleccionados roten libremente. Una vez que se ha estrechado el grupo de ligandos potenciales, pueden emprenderse análisis de acoplamiento más sofisticados para identificar ligandos de alta afinidad capaces de interactuar con un blanco proteínico dado a través de su espectro de estados conformacionales. El desarrollo de computación de nube ofrece una avenida potencial para expandir la capacidad computacional disponible para efectuar CADD.

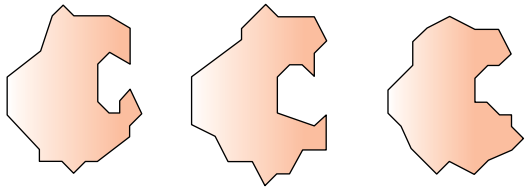


FIGURA 10-8 **Representación bidimensional de una serie de conformaciones de una proteína.** Note cómo cambia la forma del sitio de unión.

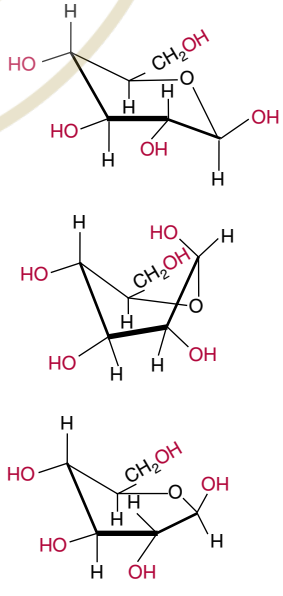


FIGURA 10-9 **Conformadores de un ligando simple.** Se muestran tres de las muchas conformaciones diferentes de la glucosa, comúnmente denominadas silla (arriba), bote retorcido (*twist boat*) (en medio) y media silla (abajo). Note las diferencias no sólo de la forma y de lo compacto, sino de la posición de los grupos hidroxilo, los participantes potenciales en enlaces de hidrógeno, como se pone de relieve en color rojo.

Relaciones cuantitativas entre estructura y actividad

Si no se dispone de una plantilla estructural para la proteína de interés, pueden usarse programas de computadora para ayudar a buscar inhibidores de alta afinidad para calcular y proyectar **relaciones cuantitativas entre estructura y actividad (QSAR)**. En este proceso, datos empíricos que describen propiedades clave de compuestos en estudio, como K_i, tasa de absorción, tasa de metabolismo, o umbral tóxico, se grafican en función de una representación digital de las características estéricas, electrostáticas y otras características de las moléculas de prueba. A continuación se aplica análisis de regresión o de red neuronal de la matriz multidimensional resultante para identificar características moleculares que se correlacionan bien con las propiedades biológicas deseadas. Esta información puede usarse entonces para buscar bases de datos de compuestos químicos para identificar los que poseen la combinación más promisoria de características positivas *versus* negativas.

BIOLOGÍA DE SISTEMAS Y CÉLULAS VIRTUALES

La biología de sistemas se dirige a construir diagramas de circuito que modelan el metabolismo

¿Qué pasaría si un científico pudiera detectar, en algunos momentos, el efecto de inhibir una enzima particular, de reemplazar o desactivar un gen particular, la respuesta de una célula muscular a la insulina, la proliferación de una célula cancerosa, o la producción de β amiloide al ingresar la pregunta apropiada en una computadora? ¿Qué pasaría si pudiera efectuar experimentos sobre un agente patógeno importante, como el virus del ébola, usando un virus virtual por completo seguro? El objetivo de la **biología de sistemas** es construir el equivalente molecular de diagramas de circuito que describan fielmente los componentes de una unidad funcional particular y las interacciones entre ellos en términos lógicos o matemáticos. Estas unidades funcionales pueden variar de tamaño y complejidad desde las enzimas y los metabolitos dentro de una vía biosintética a la red de proteínas que controlan el ciclo de división celular, hasta, finalmente, células, órganos y organismos enteros. Dichos modelos pueden usarse entonces para efectuar experimentos "virtuales" que pueden aumentar la rapidez y eficiencia de investigaciones empíricas al identificar las líneas de investigación más promisorias y ayudar en la evaluación de los resultados. La capacidad de realizar experimentos virtuales extiende la búsqueda del investigador, dentro de los límites de la exactitud del modelo, más allá del alcance de la tecnología empírica actual.

Ya se están realizando progresos significativos. Al construir redes moleculares virtuales, los científicos han logrado determinar de qué modo las cianobacterias construyen un reloj circadiano fiable usando sólo cuatro proteínas. Modelos de la vía de emisión de señales de receptor de célula T han revelado de qué manera estos circuitos moleculares se han ordenado para producir respuestas parecidas a conmutador en el momento de la estimulación por complejos de péptido agonista-complejo principal de histocompatibilidad (MHC) sobre una célula presentadora de antígeno. Del mismo modo que una persona construye un rompecabezas, en parte, al buscar en las piezas restantes coincidencias a los vacíos en el rompecabezas, los científicos también pueden usar los vacíos encontrados en el modelado de sistemas moleculares y celulares para guiar la identificación y anotación de las piezas de proteína restantes. Este método de ingeniería inversa se ha usado con buenos resultados para definir la función de las glicerato 2-cinasas tipo II en bacterias, y para identificar síntesis de folato "críptico" y transportar genes en plantas.

Células virtuales

Recientemente, los científicos han logrado crear de manera exitosa una red metabólica sostenible, compuesta de cerca de 200 proteínas, un paso importante hacia la creación de una **célula virtual**. El "Santo Grial" de los biólogos de sistemas es replicar la conducta de células humanas vivas *in silico*. Los beneficios potenciales de esas células virtuales serán enormes. No sólo permitirán identificar sitios óptimos para intervención terapéutica de un modo rápido y sin sesgos, sino que los efectos secundarios no intencionales pueden revelarse antes de la decisión de invertir tiempo y recursos en la síntesis, el análisis y los estudios de un farmacóforo potencial. La capacidad para efectuar investigación toxicológica rápida y económica de materiales que varían desde herbicidas hasta cosméticos beneficiará la salud de las personas. Las células virtuales también son útiles en el diagnóstico. Al manipular una célula virtual para que reproduzca el perfil metabólico de un enfermo, quizá se revelen anormalidades genéticas subyacentes. Es factible analizar de manera sistemática la interrelación de los diversos factores ambientales, de la dieta y genéticos que contribuyen a enfermedades multifactoriales como el cáncer. Estudios preliminares de terapias génicas potenciales pueden evaluarse con seguridad y rapidez en forma de programas informáticos (*in silico*).

La duplicación de una célula viva en forma de programas informáticos (*in silico*) representa una empresa en extremo formidable. No sólo es necesario que la célula virtual posea todas las proteínas y todos los metabolitos para el tipo de célula que se va a modelar (p. ej., de cerebro, hígado, nervio, músculo o adipocito), sino que éstos deben estar presentes en la concentración y la ubicación subcelular apropiadas. El modelo también ha de tomar en cuenta la dinámica funcional de sus componentes, afinidades de unión, eficiencia catalítica, modificaciones covalentes, etc. Hacer a una célula virtual capaz de dividirse o diferenciarse conllevará otro enorme salto de complejidad y sofisticación.

Los mapas de interacción molecular emplean lógica simbólica

Los modelos construidos por biólogos de sistemas pueden adoptar diversas formas dependiendo de los usos para los cuales estén proyectados, y los datos disponibles para guiar su construcción. Si se desea modelar el flujo de metabolitos por una vía anabólica o catabólica, no basta con conocer las identidades y los reactantes involucrados en cada reacción catalizada por enzima. Para obtener valores matemáticamente precisos, es necesario conocer las concentraciones de los metabolitos en cuestión, la cantidad de cada una de las enzimas presentes, y sus parámetros catalíticos.

Para la mayoría de los usuarios, es suficiente que en un modelo se describa y se prediga la naturaleza cualitativa de las interacciones entre componentes. ¿Un ligando alostérico activa la enzima o la inhibe? ¿La disociación de un complejo proteínico lleva a la degradación de uno o más de sus componentes? Para este propósito se necesitó un grupo de símbolos que describieran la lógica simbólica de estas interacciones. En las primeras representaciones con frecuencia se usaron los símbolos creados con anterioridad para construir diagramas de flujo (programación de computadoras) o circuitos electrónicos (**figura 10-10**, arriba). Sin embargo, finalmente los biólogos de sistemas diseñaron símbolos dedicados (figura 10-10, abajo) para describir estos diagramas de circuitos moleculares, más comúnmente llamados **mapas de interacción molecular (MIM)**, de los cuales se muestra un ejemplo en la **figura 10-11**. Lamentablemente, como sucede en la nomenclatura de las enzimas (capítulo 7), aún no surge un grupo de símbolos consistente y universal.

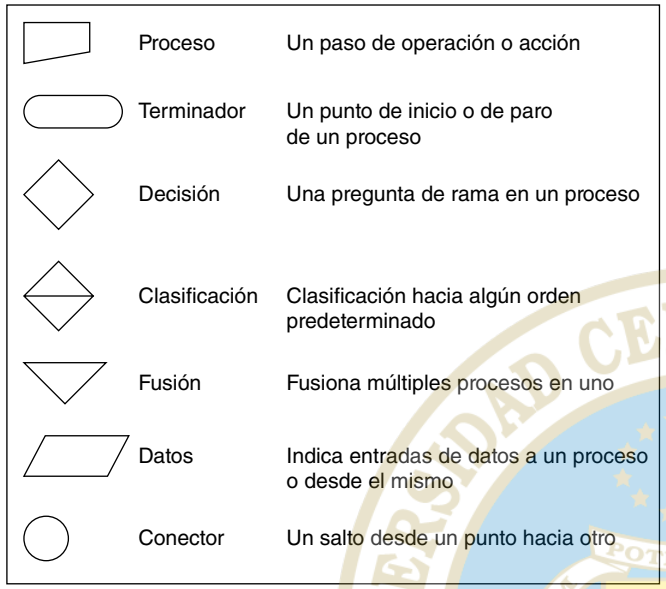


FIGURA 10-10 Símbolos usados para construir diagramas de circuito moleculares en biología de sistemas. (Arriba) símbolos de diagrama de flujo muestra. (Abajo) símbolos gráficos para mapas de interacción molecular. (Adaptado de Kohn KW *et al.*: Molecular interaction maps of bioregulatory networks: a general rubric for systems biology. Mol Biol Cell 2006;17:1.)

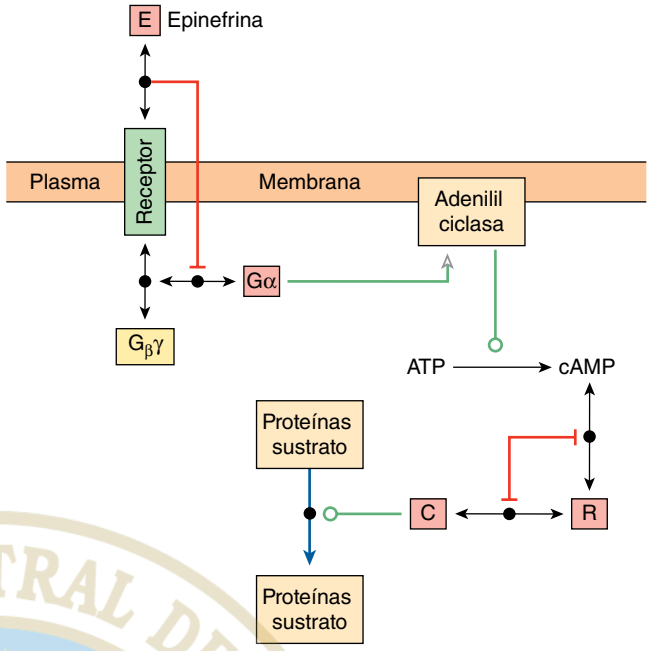


FIGURA 10-11 Representación de una red de interacción molecular (MIN) que describe una cascada de transducción de señal que lleva a la fosforilación de proteínas sustrato por la subunidad catalítica, C, de la proteína cinasa dependiente de AMP cíclico en respuesta a la epinefrina. Las proteínas se representan como rectángulos o cuadrados. Las flechas con doble punta indican la formación de complejo no covalente representado por un punto a la mitad de la flecha. Las líneas de color rojo con extremos en forma de T indican interacción inhibidora. La flecha verde con punta hueca indica una interacción estimuladora. La línea de color verde con un círculo blanco en el extremo indica catálisis. La flecha de color azul con P indica modificación covalente por medio de fosforilación. (Símbolos adaptados de Kohn KW *et al.*: Molecular interaction maps of bioregulatory networks: a general rubric for systems biology. Mol Biol Cell 2006; 17:1.)

CONCLUSIÓN

Los campos en rápida evolución de la bioinformática y la biología computacional hacen promesas sin precedente para el futuro tanto de la medicina como de la biología básica. Algunas promesas en la actualidad se perciben de manera clara, otras vagamente, mientras que algunas más ni siquiera se han imaginado. Un objetivo importante de los biólogos computacionales es crear recursos de computadora que incrementarán la eficiencia, eficacia y rapidez de la creación de medicamentos. Los epidemiólogos emplean computadoras para extraer patrones dentro de una población indicativos de causas específicas tanto de enfermedad

como de bienestar, y de factores que contribuyen a ambos. Parece haber poca duda de que sus repercusiones sobre la práctica médica durante el siglo XXI serán iguales o superarán la del descubrimiento de la patogenia bacteriana en el siglo XIX.

RESUMEN

- La genómica ha proporcionado una cantidad masiva de información de gran valor potencial para científicos y médicos.
- La genómica será el catalítico para el desarrollo y la diseminación de la medicina personalizada, en la cual el diagnóstico y tratamiento estarán guiados por el conocimiento de las secuencias de DNA individual de un paciente.
- La bioinformática comprende el diseño de algoritmos de computadora y la construcción de bases de datos que permiten a los científicos recolectar, acceder y analizar la creciente avalancha de datos biomédicos.
- El objetivo de la epidemiología es extraer información médica a partir de la conducta de poblaciones de seres humanos heterogéneas mediante la aplicación de instrumentos estadísticos sofisticados.
- Los desafíos importantes en la construcción de bases de datos fáciles de emplear incluyen idear medios para almacenar y organizar datos complejos que se adaptan a una amplia gama de criterios de búsqueda potenciales.
- El objetivo del Encode Project es identificar todos los elementos funcionales dentro del genoma humano.
- Las bases de datos HapMap, *Entrez* Gene y dbGAP contienen datos respecto al vínculo entre mutaciones genéticas y estados patológicos.
- La genómica ha descubierto las secuencias de muchos miles de proteínas para las cuales no se dispone de datos respecto a su estructura y función.
- BLAST se usa para identificar proteínas y genes desconocidos al buscar homólogos de secuencia de función conocida.
- Los biólogos computacionales están trabajando para desarrollar programas que predecirán la estructura tridimensional de proteínas directamente a partir de su secuencia primaria mediante descifrar el código plegado.
- El diseño ayudado por computadora acelera el descubrimiento de fármacos al tratar de acoplar inhibidores potenciales a blancos proteínicos seleccionados *in silico.*
- Los biólogos computacionales buscan aumentar la rapidez y el alcance de la investigación biomédica al construir representaciones digitales de proteínas, vías y células que permitirán a los científicos efectuar experimentos virtuales mediante modelado por computadora.
- El objetivo final de los biólogos de sistemas es crear células virtuales que puedan usarse para diagnosticar y tratar enfermedades con mayor seguridad y eficiencia, en especial las de naturaleza multifactorial.
- Los biólogos de sistemas por lo general construyen representaciones esquemáticas conocidas como **mapas de interacción molecular**, en los cuales se emplea lógica simbólica para ilustrar las relaciones entre los componentes que constituyen una vía o alguna otra unidad funcional.

REFERENCIAS

Altschul SF, Gish W, Miller W, *et al*: Basic local alignment search tool. J Mol Biol 1990;215:403.

Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, *et al*: Exome sequencing as a tool for Mendelian gene discovery. Nature Rev Genetics 2011;12:745.

Bromberg Y: Building a genome analysis pipeline to predict gene risk and prevent disease. J Mol Biol 2013;425:3993.

Couzin J: The HapMap gold rush: researchers mine a rich deposit. Science 2006;312:1131.

Cravatt BF, Wright AT, Kozarich JW: Activity-based protein profiling: from enzyme chemistry to proteomic chemistry. Annu Rev Biochem 2008;77:383.

Dark MJ: Whole genome sequencing in bacteriology: state of the art. Infect Drug Resist 2013;6:115.

Ekins S, Mestres J, Testa B: *In silico* pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. Br J Pharmacol 2007;152:9.

Ekins S, Mestres J, Testa B: *In silico* pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. Br J Pharmacol 2007;152:21.

Gibson DG, Glass JL, Lartique C, *et al*: Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science 2010;329:52.

Guha R: On exploring structure-activity relationships. Methods Mol Biol 2013;993:81.

Kaiser J: Affordable "exomes" fill gaps in a catalog of rare diseases. Science 2010;330:903.

Kohn KW, Aladjem MI, Weinstein JN, *et al*: Molecular interaction maps of bioregulatory networks: a general rubric for systems biology. Mol Biol Cell 2006;17:1.

Laurie ATR, Jackson RM: Methods for prediction of protein–ligand binding sites for structure-based drug design and virtual ligand screening. Curr Prot Peptide Sci 2006;7:395.

McInnes C: Virtual screening strategies in drug discovery. Curr Opin Cell Biol 2007;11:494.

Mohamed S, Syed B: Commercial prospects for genomic sequencing technologies. Nature Rev Drug Disc 2013;12:341.

Oppenheimer GM: Becoming the Framingham study 1947-1950. Am J Public Health 2005;95:602.

Qu H, Fang X: A brief review on the human encyclopedia of DNA elements (ENCODE) project. Genomics Proteomics Bioinformatics 2013;11:135.

Pasic MD, Samaan S, Yousef GM: Genomic medicine: New frontiers and new challenges. Clin Chem 2013;59:158.

Sudmant PH, Kitzman JO, Antonacci F, *et al*: Diversity of human gene copy number variation and multicopy genes. Science 2010;330:641.

The 1000 Genomes Project Consortium: An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. Nature 2013;491:56.

Wade CH, Tarini BA, Wilfond BS: Growing up in the genomic era: Implications of whole-genome sequencing for children, families, and pediatric practice. Annu Rev Genomics Hum Genet 2013;14:535.

Wheeler DA, Wang L: From human genome to cancer genome: The first decade. Genome Res 2013;23:1054.

Preguntas de examen

Sección II Enzimas, cinética, mecanismo, regulación y bioinformática

1. La respiración rápida y superficial puede llevar a hiperventilación, un estado en el cual se exhala dióxido de carbono desde los pulmones con una rapidez que supera la producción de dicho compuesto por los tejidos. Explique cómo la hiperventilación puede llevar a un incremento del pH de la sangre.

2. Un ingeniero de proteína desea alterar el sitio activo de la quimotripsina de modo que divida enlaces peptídicos para el lado C terminal de residuos de aspartilo y glutamilo. El ingeniero de proteína tendrá más probabilidades de tener éxito si reemplaza el aminoácido hidrofóbico en la parte inferior de la bolsa del sitio activo con:
   A. Fenilalanina.
   B. Treonina.
   C. Glutamina.
   D. Lisina.
   E. Prolina.

3. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Muchas proteínas mitocondriales son modificadas de manera covalente por la acetilación de los grupos ε-amino de residuos de lisina.
   B. La acetilación de proteína es un ejemplo de una modificación covalente que puede "revertirse" en condiciones fisiológicas.
   C. La concentración aumentada de acetil-coa tiende a favorecer la acetilación de proteína.
   D. La acetilación aumenta la masa estérica de las cadenas laterales de aminoácido que están sujetas a esta modificación.
   E. La cadena lateral de un residuo de lisilo acetilado es una base más fuerte que la de un residuo de lisilo no modificado.

4. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La catálisis acidobásica es una característica prominente del mecanismo catalítico de la proteasa de HIV.
   B. El modelo de cerradura y llave de Fischer explica el papel de la estabilización del estado de transición en la catálisis enzimática.
   C. La hidrólisis de enlaces peptídicos por serina proteasas comprende la formación transitoria de una enzima modificada.
   D. Muchas enzimas emplean iones metálicos como grupos prostéticos o cofactores.
   E. En general, las enzimas se unen a análogos de estado de transición más estrechamente que a análogos de sustrato.

5. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Para calcular la K_{eq}, la constante de equilibrio para una reacción, se divide la tasa inicial de reacción hacia adelante ($tasa_1$) por la velocidad inicial de la reacción reversa ($tasa_{-1}$).
   B. La presencia de una enzima no tiene efectos sobre la K_{eq}.
   C. Para una reacción conducida a temperatura constante, la fracción de las moléculas de reactante potenciales que poseen suficiente energía cinética para exceder la energía de activación de la reacción es una constante.
   D. Las enzimas y otros catalíticos disminuyen la energía de activación de reacciones.
   E. El signo algebraico de ΔG, el cambio de energía libre de Gibbs para una reacción, indica la dirección en la cual procederá una reacción.

6. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Como se usa en bioquímica, la concentración de estado estándar para productos y reactantes que no son protones es 1 molar.
   B. ΔG es una función del logaritmo de K_{eq}.
   C. Como se usa en cinética de reacción, el término "espontaneidad" se refiere al hecho de si la reacción como está escrita es favorecida para que proceda de izquierda a derecha.
   D. ΔG^o denota un cambio de la energía libre que acompaña la transición desde el estado estándar hacia el equilibrio.
   E. En el momento en que se alcanza equilibrio, las tasas de la reacción hacia adelante y reversa disminuyen a cero.

7. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Las enzimas disminuyen la energía de activación para una reacción.
   B. Otro medio mediante el cual las enzimas disminuyen la energía de activación es al desestabilizar intermediarios de estado de transición.
   C. Los residuos histidilo de sitio activo a menudo ayudan a la catálisis al actuar como donadores de protones o como aceptores de los mismos.
   D. Algunas enzimas emplean catálisis covalente para proporcionar una vía de reacción única.
   E. La presencia de una enzima no tiene efectos sobre el ΔG^o.

8. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Para casi todas las enzimas, la relación de [S] y la tasa de reacción inicial, v_i, da una curva hiperbólica.
   B. Cuando [S] es mucho más bajo que K_m, el término K_m + [S] en la ecuación de Michaelis-Menten se aproxima mucho a K_m. En estas condiciones, la tasa de catálisis es una función lineal de [S].
   C. Las concentraciones molares de sustrato y productos son iguales cuando la tasa de una reacción catalizada por enzima alcanza la mitad de su máximo potencial ($V_{máx}/2$).
   D. Se dice que una enzima ha quedado saturada con sustrato cuando el aumento sucesivo de [S] no produce un incremento importante de v_i.
   E. Cuando se hacen mediciones de tasa de estado estable, la concentración de sustratos debe exceder mucho la del catalítico enzimático.

9. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Ciertas enzimas monoméricas muestran cinética de tasa inicial sigmoidea.
   B. La ecuación de Hill se usa para realizar análisis cuantitativo de conducta cooperativa de enzimas o proteínas de transporte, como hemoglobina o calmodulina.
   C. Para una enzima que muestra unión cooperativa de sustrato, se dice que un valor de n (el coeficiente de Hill) de más de la unidad muestra cooperatividad positiva.
   D. Se dice que una enzima que cataliza una reacción entre dos o más sustratos opera mediante un mecanismo secuencial si los sustratos deben unirse en un orden fijo.

E. Los grupos prostéticos permiten a las enzimas añadir capacidades más allá de las proporcionadas por cadenas laterales de aminoácidos.

10. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. IC_{50} es un término operacional sencillo para expresar la potencia de un inhibidor.
    B. En los gráficos de Lineweaver-Burk y de Dixon se emplean versiones reordenadas de la ecuación de Michaelis-Menten para generar representaciones lineales de conducta e inhibición cinéticas.
    C. Un gráfico de $1/v_i$ en contraposición con 1/[S] puede usarse para evaluar el tipo de un inhibidor y la magnitud del mismo.
    D. Los inhibidores simples no competitivos disminuyen la K_m aparente para un sustrato.
    E. Los inhibidores no competitivos típicamente tienen poca o ninguna semejanza estructural con el o los sustratos de una reacción catalizada por enzima.

11. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. Para una enzima dada, las concentraciones intracelulares de sus sustratos tienden a estar cerca de sus valores de K_m.
    B. El secuestro de ciertas vías dentro de orgánulos intracelulares facilita la tarea de la regulación metabólica.
    C. El paso más temprano en una vía bioquímica en la cual puede ejercerse con eficiencia control regulador es el primer paso comprometido.
    D. Regulación por retroacción se refiere al control alostérico de un paso temprano en una vía bioquímica por el o los productos finales de esa vía.
    E. El control metabólico es más eficaz cuando uno de los pasos rápidos en una vía es establecido como objetivo para regulación.

12. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. El efecto Bohr se refiere a la liberación de protones que ocurre cuando el oxígeno se une a la desoxihemoglobina.
    B. Poco después del nacimiento de un lactante humano, hay inducción rápida de la síntesis de la cadena α hasta que comprende 50% del tetrámero de hemoglobina.
    C. La cadena β de hemoglobina fetal está presente durante toda la gestación.
    D. El término talasemia se refiere a cualquier defecto genético que da por resultado falta total o parcial de las cadenas α o β de la hemoglobina.
    E. La conformación tensa de la hemoglobina es estabilizada por varios puentes de sal que se forman entre las subunidades.

13. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. El obstáculo estérico por la histidina E7 desempeña un papel crucial en la debilitación de la afinidad de la hemoglobina por el monóxido de carbono (CO).
    B. La anhidrasa carbónica desempeña un papel crucial en la respiración en virtud de su capacidad para desintegrar 2,3-difosfoglicerato en los pulmones.
    C. La hemoglobina S se distingue por una mutación genética que sustituye Glu6 en la subunidad β por Val, lo cual crea un parche pegajoso sobre su superficie.
    D. La oxidación del hierro hem del estado +2 al estado +3 suprime la capacidad de la hemoglobina para unirse al oxígeno.
    E. Las diferencias funcionales entre la hemoglobina y la mioglobina reflejan, en un alto grado, diferencias de su estructura cuaternaria.

14. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. La red de transmisión de carga de la tripsina hace que el sitio activo de la serina sea un nucleófilo más potente.
    B. La constante de Michaelis es la concentración de sustrato a la cual la tasa de la reacción es de la mitad del máximo.
    C. Durante reacciones de transaminación, ambos sustratos están unidos a la enzima antes de que se libere cualquier producto.
    D. Los residuos de histidina actúan como ácidos y como bases durante la catálisis por una aspartato proteasa.
    E. Muchas coenzimas y cofactores se derivan de vitaminas.

15. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. Las enzimas interconvertibles desempeñan funciones clave en redes reguladoras integradas.
    B. B. La fosforilación de una enzima a menudo altera su eficiencia catalítica.
    C. Los "segundos mensajeros" actúan como extensiones intracelulares o sustitutos para hormonas e impulsos nerviosos que inciden sobre receptores de superficie celular.
    D. La capacidad de proteína cinasas para catalizar la reacción reversa que elimina el grupo fosforilo es clave para la versatilidad de este mecanismo regulador molecular.
    E. La activación de zimógeno por proteólisis parcial es irreversible en condiciones fisiológicas.

16. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. La HapMap Database se enfoca en la localización e identidad de polimorfismos de un solo nucleótido en seres humanos.
    B. Genbank es un depósito de datos sobre los resultados fenotípicos de deleciones (knockout) de gen en seres humanos.
    C. La Protein Database o PDB almacena las estructuras tridimensionales de proteínas según se determina mediante cristalografía de rayos X o espectroscopia por resonancia magnética nuclear (NMR).
    D. El objetivo del proyecto ENCODE es identificar todos los elementos funcionales del genoma.
    E. BLAST compara secuencias de proteína y de nucleótido para identificar áreas de similitud.

17. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. Un obstáculo importante en el diseño de fármacos auxiliado por computadora son las extraordinarias demandas de capacidad de cómputo requeridas para permitir a las proteínas y ligandos que tengan un grado realista de flexibilidad conformacional.
    B. La flexibilidad conformacional se necesita para permitir que el ligando y la proteína influyan uno sobre el otro como se describe mediante modelos de cerradura y llave para la unión entre proteína y ligando.
    C. La construcción de una célula virtual podría proporcionar un medio para detectar con rapidez y eficiencia muchos efectos indeseables de fármacos potenciales, sin la necesidad de pruebas de laboratorio costosas.
    D. La biología de sistemas pone de relieve la manera en la cual las conexiones entre componentes enzimáticos u otros componentes en una célula afectan su desempeño.
    E. Los biólogos de sistemas a menudo emplean la lógica simbólica de los programas de computadora y los circuitos electrónicos para describir las interacciones entre proteínas, genes y metabolitos.

18. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. Las representaciones GRASP ponen de relieve áreas de la superficie de una proteína que poseen carácter positivo o negativo local.
    B. Las simulaciones de dinámica molecular buscan reconstruir los tipos de movimiento y el rango de este último por los cuales pasan las proteínas flexibles desde el punto de vista conformacional.
    C. Los investigadores usan programas de esfera giratoria para localizar indentaciones y hendeduras sobre la superficie de una proteína, porque éstas representan sitios probables para el ataque por proteasas.
    D. Para adaptarse al poder de cómputo disponible, las simulaciones de acoplamiento molecular a menudo restringen la rotación libre a sólo un pequeño grupo de enlaces en un ligando.
    E. Discernir las relaciones evolutivas entre proteínas constituye uno de los medios más eficaces de predecir las funciones probables de un polipéptido recién descubierto.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN III

Bioenergética

CAPÍTULO 11

Bioenergética: la función del ATP

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Enunciar la primera y segunda leyes de la termodinámica, y entender cómo se aplican a sistemas biológicos.
- Explicar qué significan los términos energía libre, entropía, entalpía, exergónico y endergónico.
- Apreciar cómo las reacciones que son endergónicas pueden ser impulsadas por acoplamiento a las que son exergónicas en sistemas biológicos.
- Entender la función de fosfatos de alta energía, ATP y otros nucleótido trifosfatos en la transferencia de energía libre desde procesos exergónicos hacia endergónicos, lo que les permite actuar como la "moneda de energía" de las células.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioenergética, o termodinámica bioquímica, es el estudio de los cambios de energía que acompañan a reacciones bioquímicas. Los sistemas biológicos son, en esencia, **isotérmicos**, y usan energía química para impulsar procesos vivos. El modo en que un animal obtiene combustible idóneo a partir de sus alimentos para proporcionar esta energía es básico para el entendimiento de la nutrición y el metabolismo normales. La muerte por **inanición** ocurre cuando se agotan las reservas de energía disponibles, y ciertas formas de malnutrición se relacionan con desequilibrio de energía (**marasmo**). Las hormonas tiroideas controlan el **índice metabólico** (índice de liberación de energía) y sobreviene enfermedad cuando funcionan mal. El almacenamiento excesivo de energía excedente causa **obesidad**, misma que es cada vez más común en la sociedad occidental, padecimiento que predispone a muchas enfermedades, como enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2, además de que disminuye la esperanza de vida del individuo.

LA ENERGÍA LIBRE ES LA ENERGÍA ÚTIL EN UN SISTEMA

El cambio de **energía libre** de Gibbs (ΔG) es la porción del cambio de energía total en un sistema que está disponible para desempeñar trabajo, es decir, la energía útil, también conocida como el potencial químico.

Los sistemas biológicos se conforman a las leyes generales de la termodinámica

La primera ley de la termodinámica establece que **la energía total de un sistema, incluso sus alrededores, permanece constante**. Eso implica que dentro del sistema total, la energía no se pierde ni se gana durante cambio alguno; sin embargo, sí se puede transferir de una porción del sistema a otra, o transformarse en otra forma de energía. En sistemas vivos, la energía química se transforma hacia calor o hacia energías eléctrica, radiante o mecánica.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
FUNDADA EN EL AÑO

La segunda ley de la termodinámica establece que **para que un proceso ocurra de manera espontánea, es necesario que la entropía total de un sistema aumente**. La **entropía** es la extensión de trastorno o de aleatoriedad del sistema y alcanza su punto máximo conforme alcanza el equilibrio. En condiciones de temperatura y presión constantes, el vínculo entre el cambio de energía libre (ΔG) de un sistema que está reaccionando y el cambio de entropía (ΔS) se expresa por medio de la ecuación que sigue, que combina las dos leyes de la termodinámica:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

donde ΔH es el cambio de la **entalpía** (calor) y T es la temperatura absoluta.

En reacciones bioquímicas, dado que ΔH es aproximadamente igual a ΔE, el cambio total de energía interna de la reacción, la relación anterior puede expresarse como sigue:

$$\Delta G = \Delta E - T\Delta S$$

Si ΔG es negativa, la reacción procede de modo espontáneo con pérdida de la energía libre; esto es, es **exergónica**. Si, además, ΔG es de gran magnitud, la reacción avanza casi hasta completarse y es, en esencia, irreversible. Por otra parte, si ΔG es positiva, la reacción sólo procede si es factible ganar energía libre; de modo que es **endergónica**. Si, además, ΔG es de gran magnitud, el sistema es estable, con poca o ninguna tendencia a que ocurra una reacción. Si ΔG es de cero, el sistema está en equilibrio y no tiene lugar un cambio neto.

Cuando los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L, ΔG^0 es el cambio de energía libre estándar. Para reacciones bioquímicas, un estado estándar es definido como tener un pH de 7.0. El cambio de energía libre estándar a tal estado estándar es indicado por $\Delta G^{0\prime}$.

El cambio de energía libre estándar puede calcularse a partir de la constante de equilibrio K_{eq}.

$$\Delta G^{0'} = -RT \ln K'_{eq}$$

donde R es la constante gaseosa y T es la temperatura absoluta (capítulo 8). Es importante notar que la ΔG real puede ser mayor o menor que $\Delta G^{0'}$, según las concentraciones de los diversos reactivos, incluso el solvente, diversos iones y proteínas.

En un sistema bioquímico, una enzima sólo acelera el logro del equilibrio; nunca altera las concentraciones finales de los reactivos en equilibrio.

LOS PROCESOS ENDERGÓNICOS PROCEDEN POR MEDIO DE ACOPLAMIENTO A PROCESOS EXERGÓNICOS

Los procesos vitales —p. ej., reacciones sintéticas, contracción muscular, conducción de impulsos nerviosos, transporte activo— obtienen energía mediante enlace químico, o **acoplamiento**, a reacciones oxidativas. En su forma más simple, este tipo de acoplamiento puede representarse como lo muestra la **figura 11-1**. La conversión del metabolito A en el metabolito B ocurre con liberación de energía libre y está acoplada a otra reacción en la cual se requiere energía libre para convertir el metabolito C en el metabolito D. Los términos **exergónico** y **endergónico**, en lugar de los términos químicos normales "exotérmico" y "endotérmico", indican que un proceso está acompañado de pérdida o ganancia, respectivamente, de energía libre en cualquier forma, no siempre como calor. En la práctica, un proceso endergónico no puede existir de manera independiente, sino que debe ser un componente de un sistema exergónico-endergónico acoplado donde el cambio neto general es exergónico. Las reacciones exergónicas reciben el nombre de **catabolismo** (en general, la desintegración u oxidación de moléculas de combustible), en tanto que las reacciones sintéticas que acumulan sustancias se llaman **anabolismo**; los procesos catabólico y anabólico combinados constituyen el **metabolismo**.

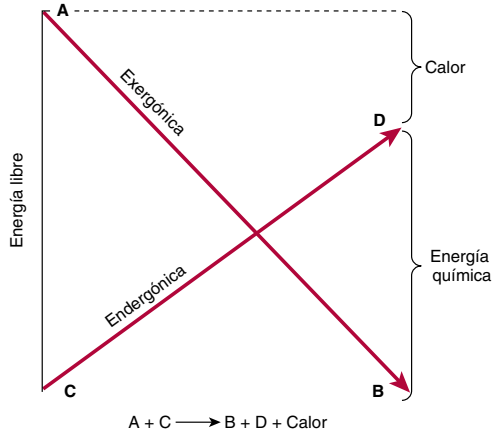


FIGURA 11-1 **Acoplamiento de una reacción exergónica a una endergónica**.

Si la reacción que se muestra en la figura 11-1 va de izquierda a derecha, el proceso general debe acompañarse de pérdida de energía libre como calor. Un mecanismo posible de acoplamiento podría imaginarse si un intermediario (I) obligatorio común tomó parte en ambas reacciones, esto es,

$$A + C \rightarrow 1 \rightarrow B + D$$

Algunas reacciones exergónicas y endergónicas en sistemas biológicos están acopladas de este modo. Este tipo de sistema tiene un mecanismo integrado para el control biológico del índice de procesos oxidativos, puesto que el intermediario obligatorio común permite que el índice de utilización del producto de la vía sintética (D) determine mediante acción de masa el índice al cual se oxida A. En realidad, estos vínculos proporcionan una base para el concepto de **control respiratorio**, el proceso que evita que un organismo se consuma fuera de control. Las reacciones de deshidrogenación, que están acopladas a hidrogenaciones por medio de un acarreador intermedio (**figura 11-2**), proporcionan una extensión del concepto de acoplamiento.

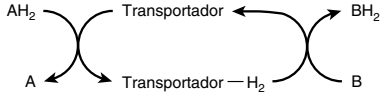


FIGURA 11-2 **Acoplamiento de reacciones de deshidrogenación e hidrogenación por un transportador intermedio**.

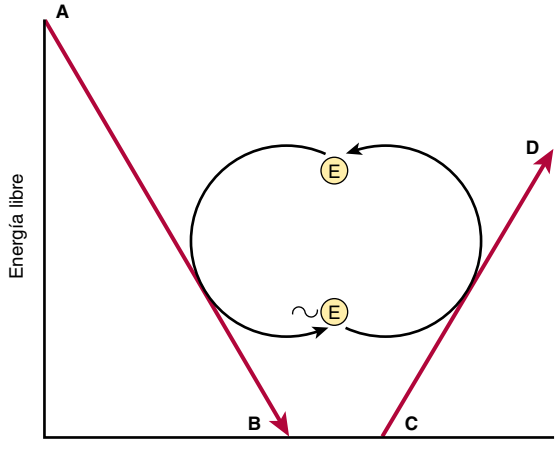


FIGURA 11-3 **Transferencia de energía libre desde una reacción exergónica hacia una endergónica mediante un compuesto intermedio de alta energía (~Ⓔ).**

Un método alternativo de acoplar un proceso exergónico a uno endergónico es sintetizar un compuesto de alta energía potencial en la reacción exergónica, e incorporar este nuevo compuesto hacia la reacción endergónica, lo que efectúa una transferencia de energía libre desde la vía exergónica hacia la endergónica (**figura 11-3**). La ventaja biológica de este mecanismo es que el compuesto de energía potencial alta, ~Ⓔ, al contrario de I en el sistema previo, no necesita estar relacionado de modo estructural con A, B, C o D, lo que permite que Ⓔ sirva como un transductor de energía desde una amplia gama de reacciones exergónicas hacia una gama igual de amplia de reacciones o procesos endergónicos, como biosíntesis, contracción muscular, excitación nerviosa y transporte activo. En la célula viva, el principal intermediario de alta energía o compuesto acarreador (designado ~Ⓔ en la figura 11-3), es el **trifosfato de adenosina (ATP) (figura 11-4)**.

LOS FOSFATOS DE ALTA ENERGÍA TIENEN UNA FUNCIÓN FUNDAMENTAL EN LA CAPTACIÓN Y LA TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

A fin de mantener procesos vivos, todos los organismos deben obtener energía libre desde su ambiente. Los organismos **autotróficos** utilizan procesos exergónicos simples; por ejemplo, la energía de la luz solar (plantas verdes), la reacción $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (algunas bacterias). Por otra parte, los organismos **heterotróficos** obtienen energía libre al acoplar su metabolismo a la desintegración de moléculas orgánicas complejas en su ambiente. En todos estos organismos, el ATP tiene una función fundamental en la transferencia de energía libre desde los procesos exergónicos hacia los endergónicos (figura 11-3). El ATP es un nucleósido que consiste en el nucleósido de adenosina (adenina ligada a ribosa) y tres grupos fosfato (capítulo 32). En sus reacciones en la célula, funciona como el complejo de Mg^{2+} (figura 11-4).

La importancia de los fosfatos en el metabolismo intermediario se hizo evidente con el descubrimiento de la función del ATP, difosfato de adenosina (ADP) (figura 11-4) y fosfato inorgánico (P_i) en la glucólisis (capítulo 17).

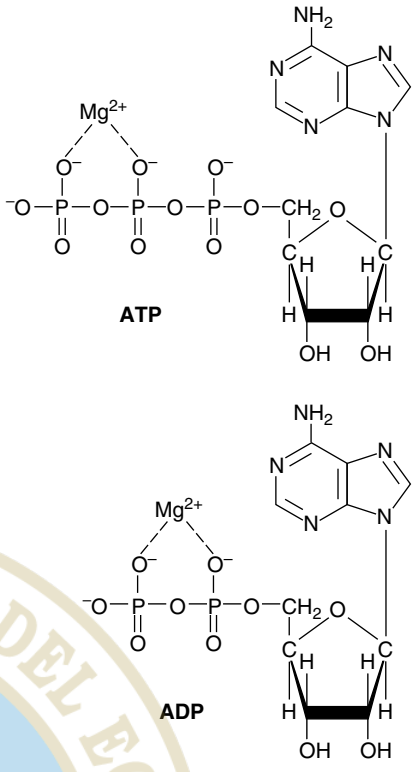


FIGURA 11-4 **El trifosfato de adenosina (ATP) y el difosfato de adenosina mostrados como complejos de magnesio.**

El valor intermedio para la energía libre de hidrólisis del ATP tiene gran importancia bioenergética

El **cuadro 11-1** muestra la energía libre estándar de la hidrólisis de diversos fosfatos importantes desde el punto de vista bioquímico. Un estimado de la tendencia comparativa de cada uno de los grupos fosfato para transferir hacia un aceptor idóneo puede obtenerse a partir de la $\Delta G^{0'}$ de la hidrólisis a 37 °C. El valor para la hidrólisis del fosfato terminal del ATP divide la lista en dos grupos. Los **fosfatos de baja energía**, ejemplificados por los fosfatos éster que se encuentran en los intermediarios de la glucólisis, tienen valores de $G^{0'}$ menores que los del ATP, mientras que en los **fosfatos de alta energía** el valor es mayor que el del ATP. Los componentes de este último grupo, incluso el ATP, por lo general son anhídridos (p. ej., el 1-fosfato del 1,3-bisfosfoglicerato), enolfosfatos (p. ej., fosfoenolpiruvato) y fosfoguanidinas (p. ej., creatina fosfato, arginina fosfato).

El símbolo ~Ⓟ indica que el grupo fijo al enlace, en el momento de transferencia hacia un aceptor apropiado, da por resultado la transferencia de la cantidad más grande de energía libre. Por este motivo, algunos prefieren el término **potencial de transferencia de grupo**, más que "enlace de alta energía". De esta manera, el ATP contiene dos grupos fosfato de alta energía y el ADP contiene uno, mientras que el fosfato en el AMP (monofosfato de adenosina) es del tipo de baja energía, porque es un enlace éster normal (**figura 11-5**).

La posición intermedia del ATP permite que desempeñe una función importante en la transferencia de energía. El cambio de energía libre en el momento de la hidrólisis del ATP se debe a

CUADRO 11-1 Energía libre estándar de hidrólisis de algunos organofosfatos de importancia bioquímica

Compuesto	$\Delta G^{0\prime}$ kJ/mol	$\Delta G^{0\prime}$ kcal/mol
Fosfoenolpiruvato	−61.9	−14.8
Carbamoil fosfato	−51.4	−12.3
1,3-bisfosfoglicerato (a 3-fosfoglicerato)	−49.3	−11.8
Creatina fosfato	−43.1	−10.3
ATP → AMP + PP_i	−32.2	−7.7
ATP → ADP + P_i	−30.5	−7.3
Glucosa 1-fosfato	−20.9	−5.0
PP_i	−19.2	−4.6
Fructuosa 6-fosfato	−15.9	−3.8
Glucosa 6-fosfato	−13.8	−3.3
Glicerol 3-fosfato	−9.2	−2.2

Abreviaturas: PP_i, pirofosfato; P_i, ortofosfato inorgánico.
Nota: Todos los valores tomados de Jencks (1976), excepto los valores para el PP_i, que son de Frey y Arabshahi (1995). Los valores difieren entre investigadores, según las condiciones precisas en las cuales se hicieron las mediciones.

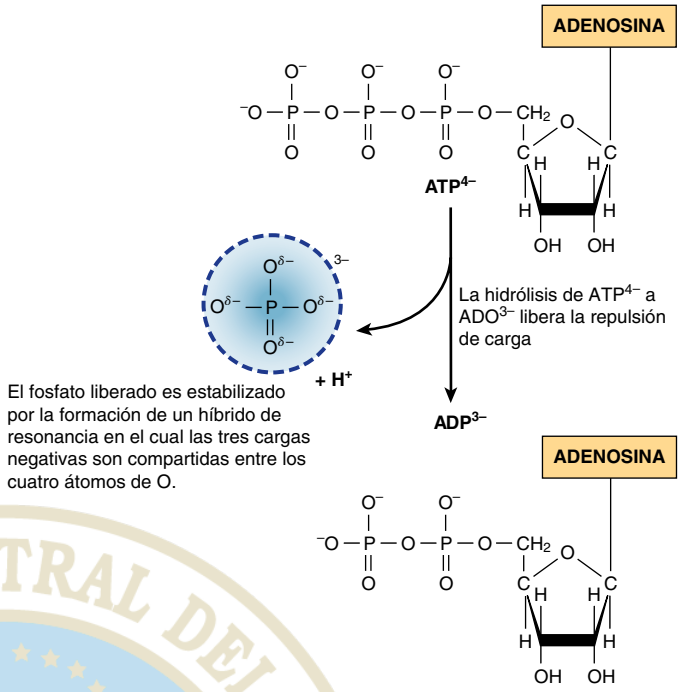


FIGURA 11-6 Cambio de energía libre en la hidrólisis de ATP a ADP.

alivio de la repulsión de carga de átomos de oxígeno adyacentes que tienen carga negativa, y a estabilización de los productos de la reacción, en especial fosfato, como híbridos de resonancia (**figura 11-6**). Otros "compuestos de alta energía" son ésteres tiol que incluyen a la coenzima A (p. ej., acetil-CoA), proteína acarreadora de acilo, y ésteres aminoácidos comprendidos en la síntesis de proteína, *S*-adenosilmetionina (metionina activa), UDPGlc (uridina difosfato glucosa) y PRPP (5-fosforribosil-1-pirofosfato).

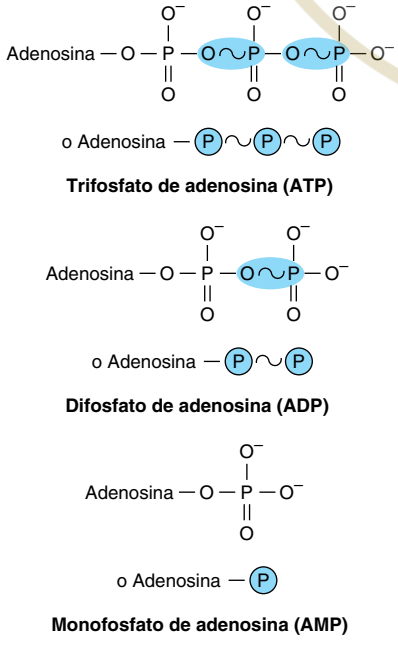


FIGURA 11-5 Estructura del ATP, ADP y AMP, que muestra la posición y el número de fosfatos de alta energía (~Ⓟ).

LOS FOSFATOS DE ALTA ENERGÍA ACTÚAN COMO LA "MONEDA DE ENERGÍA" DE LA CÉLULA

El ATP puede actuar como un donador de fosfato de alta energía para formar los compuestos que están por debajo del mismo en el cuadro 11-1. De igual modo, con las enzimas necesarias, el ADP puede aceptar fosfato de alta energía para formar ATP a partir de los compuestos que se hallan por arriba del ATP en el cuadro. En efecto, un **ciclo de ATP/ADP** conecta los procesos que generan ~Ⓟ con los procesos que lo utilizan (**figura 11-7**), lo que consume y regenera ATP de manera continua. Esto sobreviene a un índice muy rápido, dado que el fondo común total de ATP/ADP es en extremo pequeño, y suficiente para mantener un tejido activo sólo algunos segundos.

Hay tres fuentes principales de ~Ⓟ que participan en la **conservación de energía** o **captación de energía:**

1. La **fosforilación oxidativa** es la mayor fuente cuantitativa de ~Ⓟ en organismos aeróbicos. El ATP es generado en la matriz mitocondrial conforme el O_2 es reducido a H_2O por electrones que pasan por la cadena respiratoria (capítulo 13).
2. **Glucólisis:** una formación neta de dos ~Ⓟ depende de la formación de lactato a partir de una molécula de glucosa, generada en dos reacciones catalizadas por fosfoglicerato cinasa y piruvato cinasa, respectivamente (figura 17-2).
3. **El ciclo del ácido cítrico.** Se genera un ~Ⓟ de modo directo en el ciclo en el paso de la succinato tiocinasa (figura 16-3).

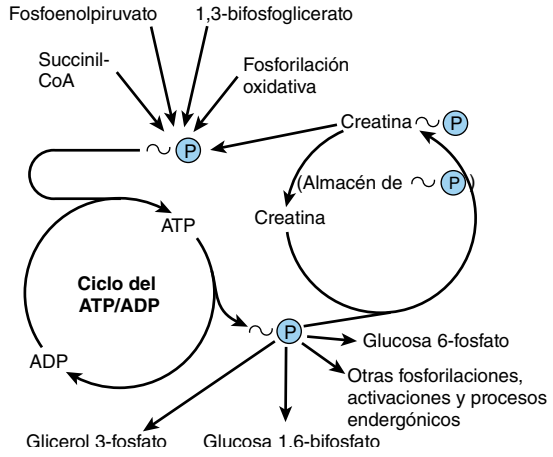
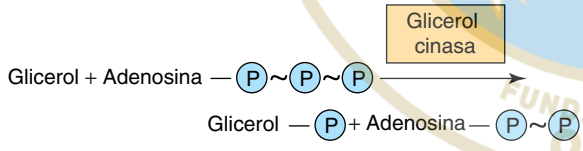


FIGURA 11-7 Función del ciclo del ATP/ADP en la transferencia de fosfato de alta energía.

Los **fosfágenos** actúan como formas de almacenamiento de fosfato de alta energía, e incluyen **creatina fosfato**, que se encuentra en el músculo estriado, el corazón, los espermatozoides y el cerebro de vertebrados, y **arginina fosfato**, que existe en el músculo de invertebrados. Cuando se está utilizando con rapidez ATP como una fuente de energía para la contracción muscular, los fosfágenos permiten que sus concentraciones se mantengan, pero cuando la proporción ATP/ADP es alta, su concentración puede incrementarse para actuar como una reserva de fosfato de alta energía (**figura 11-8**).

Cuando el ATP actúa como un donador de fosfato para formar los compuestos de energía libre más baja de hidrólisis (cuadro 11-1), el grupo fosfato siempre se convierte en uno de baja energía. Por ejemplo, la fosforilación del glicerol para formar glicerol-3-fosfato:



El ATP permite el acoplamiento de reacciones termodinámicamente desfavorables a reacciones termodinámicamente favorables

Las reacciones endergónicas no pueden proceder sin un ingreso de energía libre. Por ejemplo, la fosforilación de glucosa a glucosa 6-fosfato, la primera reacción de la glucólisis (figura 17-2):

$$\text{Glusosa} + P_i \rightarrow \text{Glucosa-6-Fosfato} + H_2O \quad (\Delta G^{0'}) = +13.8 \text{kj/mol} \qquad (1)$$

Es altamente endergónica y no es posible que ocurra bajo condiciones fisiológicas. Para que tenga lugar, la reacción debe acoplarse con otra reacción —más exergónica—, como la hidrólisis del fosfato terminal del ATP.

$$ATP \rightarrow ADP + P_i \; (\Delta G^{0'} = -30.5 \text{ kJ/mol}) \qquad (2)$$

Cuando (1) y (2) se acoplan en una reacción catalizada por hexocinasa, la fosforilación de la glucosa procede con facilidad en una reacción muy exergónica que en condiciones fisiológicas es irreversible. Muchas reacciones de "activación" siguen este modelo.

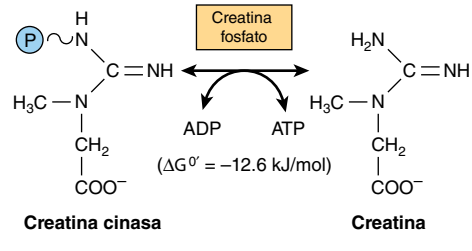


FIGURA 11-8 Transferencia de fosfato de alta energía entre ATP y creatina.

La adenilil cinasa (miocinasa) interconvierte nucleótidos adenina

Dicha enzima está presente en casi todas las células y cataliza la reacción que sigue:

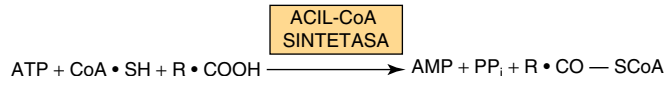


La adenilato cinasa es importante para el mantenimiento de la homeostasis de energía en las células porque permite:

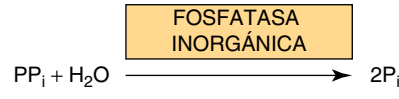
1. El fosfato de alta energía en el ADP se use en la síntesis de ATP.
2. El AMP, formado como consecuencia de varias reacciones de activación que comprenden ATP mediante refosforilación hacia ADP.
3. Aumente la concentración de AMP cuando el ATP se agota y actúa como una señal metabólica (alostérica) para incrementar el índice de reacciones catabólicas que, a su vez, llevan a la generación de más ATP (capítulo 14).

Cuando el ATP forma AMP, se produce pirofosfato inorgánico (PP_i)

El ATP también puede hidrolizarse de manera directa hacia AMP, con la liberación de PP_i (cuadro 11-1). Esto sucede, por ejemplo, en la activación de ácidos grasos de cadena larga (capítulo 22).



Esta reacción se acompaña de pérdida de energía libre como calor, lo que asegura que la reacción de activación irá hacia la derecha, y se auxilia más por la división hidrolítica del PP_i, catalizada por **pirofosfatasa inorgánica**, una reacción que en sí tiene una $\Delta G^{0'}$ grande, de –19.2 kJ/mol. Note que las activaciones por medio de la vía del pirofosfato dan por resultado la pérdida de dos ~Ⓟ más que de uno, como ocurre cuando se forman ADP y P_i.



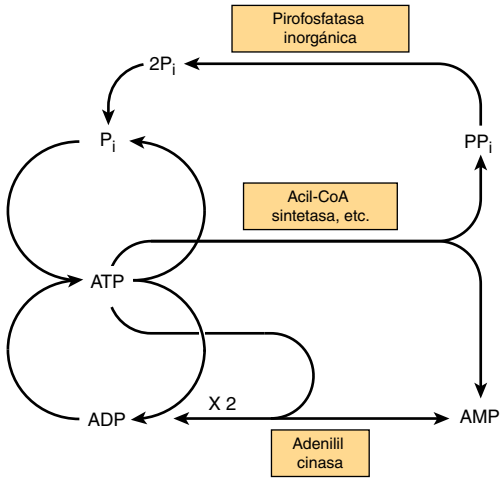
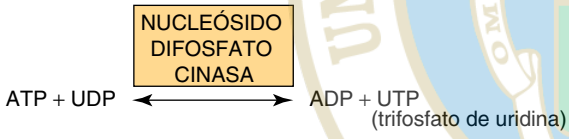


FIGURA 11-9 Ciclos del fosfato e intercambio de nucleótidos adenina.

Una combinación de las reacciones anteriores hace posible que el fosfato se recicle y que los nucleótidos adenina se intercambien (**figura 11-9**).

Otros nucleósidos trifosfato participan en la transferencia de fosfato de alta energía

Mediante la enzima **nucleósido difosfato cinasa** pueden sintetizarse UTP, GTP y CTP a partir de sus difosfatos, por ejemplo, UDP reacciona con ATP para formar UTP.



Todos estos trifosfatos participan en fosforilaciones en la célula. De modo similar, **nucleósido monofosfato cinasas (NMP)** específicas catalizan la formación de nucleósido difosfatos a partir de los monofosfatos correspondientes.

De esta manera, la adenilil cinasa es una monofosfato cinasa especializada.

RESUMEN

- En los sistemas biológicos se utiliza energía química para impulsar procesos vivos.
- Las reacciones exergónicas tienen lugar de modo espontáneo, con pérdida de energía libre (ΔG es negativa). Las reacciones endergónicas requieren la ganancia de energía libre (ΔG es positiva) y sólo ocurren cuando se acoplan a reacciones exergónicas.
- El ATP actúa como la "moneda de energía" de la célula, al transferir energía libre derivada de sustancias de potencial de energía superior hacia las de potencial de energía inferior.

REFERENCIAS

de Meis L: The concept of energy-rich phosphate compounds: water, transport ATPases, and entropy energy. Arch Biochem Biophys 1993;306:287.

Frey PA, Arabshahi A: Standard free-energy change for the hydrolysis of the alpha, beta-phosphoanhydride bridge in ATP. Biochemistry 1995;34:11307.

Harris DA: *Bioenergetics at a Glance: An Illustrated Introduction*. Blackwell Publishing, 1995.

Haynie D: *Biological Thermodynamics*. Cambridge University Press, 2008.

Jencks WP: Free energies of hydrolysis and decarboxylation. In: *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, vol 1. *Physical and Chemical Data*. Fasman GD (editor). CRC Press, 1976:296–304.

Nicholls DG, Ferguson SJ: *Bioenergetics*, 4th ed. Elsevier, 2013.

CAPÍTULO 12

Oxidación biológica

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender el significado del potencial de óxido-reducción (redox), y explicar cómo puede usarse para predecir la dirección del flujo de electrones en sistemas biológicos.
- Identificar las cuatro clases de enzimas (oxidorreductasas) involucradas en reacciones de oxidación y reducción.
- Describir la acción de oxidasas y proporcionar ejemplos de dónde desempeñan un papel importante en el metabolismo.
- Indicar las dos funciones principales de las deshidrogenasas y explicar la importancia de deshidrogenasas enlazadas a NAD y a riboflavina en vías metabólicas como la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, y la cadena respiratoria.
- Identificar los dos tipos de enzimas clasificadas como hidroperoxidasas; indicar las reacciones que catalizan y explicar por qué son importantes.
- Dar los dos pasos de reacciones catalizadas por oxigenasas, e identificar los dos subgrupos de esta clase de enzimas.
- Apreciar el papel del citocromo P-450 en la desintoxicación de fármacos y la síntesis de esteroides.
- Describir la reacción catalizada por la superóxido dismutasa, y explicar cómo protege tejidos contra toxicidad por oxígeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Desde el punto de vista químico, la **oxidación** se define como la eliminación de electrones, en tanto que la **reducción** es la ganancia de electrones. De este modo, la oxidación de una molécula (el donador de electrón) siempre se acompaña de reducción de una segunda molécula (el aceptor de electrón). Este principio de oxidación-reducción aplica por igual a sistemas bioquímicos y es un concepto importante que fundamenta el entendimiento de la naturaleza de la oxidación biológica. Note que muchas oxidaciones biológicas pueden tener lugar sin la participación de oxígeno molecular, p. ej., deshidrogenaciones. La vida de animales superiores depende por completo de un aporte de oxígeno para la **respiración**, el proceso por medio del cual las células obtienen energía en forma de ATP a partir de la reacción controlada de hidrógeno con oxígeno para formar agua. Además, el oxígeno molecular se incorpora hacia diversos sustratos mediante enzimas llamadas **oxigenasas**; muchos fármacos, contaminantes y carcinógenos químicos (xenobióticos) son metabolizados por enzimas de esta clase, conocidas como el **sistema de citocromo P450**. La administración de oxígeno puede salvar la vida en el tratamiento de pacientes con insuficiencia respiratoria o circulatoria.

LOS CAMBIOS DE ENERGÍA LIBRE PUEDEN EXPRESARSE EN TÉRMINOS DE POTENCIAL DE REDOX

En reacciones que conllevan oxidación y reducción, el cambio de energía libre es proporcional a la tendencia de los reactivos a donar electrones o aceptarlos. De esta manera, además de expresar cambio de energía libre en cuanto a $\Delta G^{0'}$ (capítulo 11), es posible, de un modo análogo, expresarlo de manera numérica como un **potencial de oxidación-reducción** o **redox** (E'_0). Desde el punto de vista químico, el potencial redox de un sistema (E_0) por lo general se compara con el potencial del electrodo de hidrógeno (0.0 voltios a pH de 0.0). Sin embargo, para sistemas biológicos, el potencial redox (E'_0) por lo general se expresa a pH de 7.0, pH al cual el potencial de electrodo de hidrógeno es de −0.42 V. El **cuadro 12-1** muestra los potenciales redox de algunos sistemas redox de interés especial en bioquímica de mamíferos. Las posiciones relativas de los sistemas redox en el cuadro permiten predecir la dirección de flujo de electrones desde una pareja redox hacia otra.

CUADRO 12-1 Algunos potenciales redox de interés especial en sistemas de oxidación de mamíferos

Sistema	Voltios E'_0
H^+/H_2	−0.42
NAD^+/NADH	−0.32
Lipoato; ox/red	−0.29
Acetoacetato/3-hidroxibutirato	−0.27
Piruvato/lactato	−0.19
Oxaloacetato/malato	−0.17
Fumarato/succinato	+0.03
Citocromo *b*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.08
Ubiquinona; ox/red	+0.10
Citocromo c_1; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.22
Citocromo *a*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.29
Oxígeno/agua	+0.82

Las enzimas comprendidas en oxidación y reducción reciben el nombre de **oxidorreductasas** y se clasifican en cuatro grupos: **oxidasas**, **deshidrogenasas**, **hidroperoxidasas** y **oxigenasas**.

LAS OXIDASAS USAN OXÍGENO COMO UN ACEPTOR DE HIDRÓGENO

Las oxidasas catalizan la eliminación de hidrógeno desde un sustrato usando oxígeno como un aceptor de hidrógeno.* Forman agua o peróxido de hidrógeno como un producto de reacción (**figura 12-1**).

La citocromo oxidasa es una hemoproteína

La **citocromo oxidasa** es una hemoproteína ampliamente distribuida en muchos tejidos, que tiene el grupo prostético hem típico presente en la mioglobina, hemoglobina y otros citocromos (capítulo 6). Es el componente terminal de la cadena de acarreadores respiratorios encontrados en mitocondrias (capítulo 13) y transfiere electrones originados por la oxidación de moléculas de sustrato por deshidrogenasas hacia su aceptor final, oxígeno. La acción de la enzima es bloqueada por **monóxido de carbono**, **cianuro** y **sulfuro de hidrógeno**, lo que causa envenenamiento al evitar que ocurra la respiración celular. También se ha denominado "citocromo a_3"; empero, ahora se sabe que el hem a_3 se combina con otro hem, el hem *a*, en una proteína única para formar el complejo de enzima citocromo oxidasa y, así, es más correcto llamarlo **citocromo *aa*$_3$**. Contiene dos moléculas de hem, cada una de las cuales tiene un átomo de Fe que oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante oxidación y reducción. Más aún, hay dos átomos de Cu, cada uno relacionado con una unidad hem.

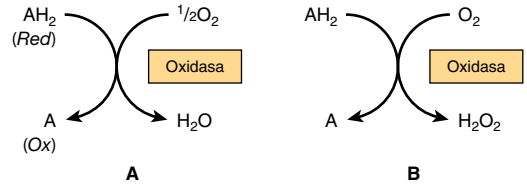


FIGURA 12-1 Oxidación de un metabolito catalizada por una oxidasa (A) formando H_2O, (B) formando H_2O_2.

Otras oxidasas son flavoproteínas

Las enzimas flavoproteína contienen **flavina mononucleótido (FMN)** o **flavina adenina dinucleótido (FAD)** como grupos prostéticos. FMN y FAD se forman en el cuerpo a partir de la vitamina **riboflavina** (capítulo 44); por lo regular están unidos de modo estrecho —aunque no covalente— a sus proteínas apoenzima respectivas. Las metaloflavoproteínas contienen uno o más metales como cofactores esenciales. Los ejemplos de enzimas flavoproteína son: **L-aminoácido oxidasa**, enzima enlazada a FMN que se encuentra en los riñones con especificidad general por la desaminación oxidativa de los L-aminoácidos que existen de manera natural; **xantina oxidasa**, que contiene molibdeno, es importante en la conversión de bases purina en ácido úrico (capítulo 33) y tiene una particular importancia en animales uricotélicos (capítulo 28), y **aldehído deshidrogenasa**, enzima enlazada a FAD presente en hígados de mamíferos, que contiene molibdeno y hierro no hem, y actúa sobre aldehídos y sustratos *N*-heterocíclicos. Los mecanismos de oxidación y reducción de estas enzimas son complejos. La evidencia sugiere una reacción de dos pasos (**figura 12-2**).

LAS DESHIDROGENASAS NO PUEDEN USAR OXÍGENO COMO ACEPTOR DE HIDRÓGENO

Esta clase incluye un gran número de enzimas. Desempeñan dos funciones principales:

1. Transferencia de hidrógeno desde un sustrato hacia otro en una reacción de oxidación-reducción acoplada (**figura 12-3**). Tales deshidrogenasas son específicas para sus sustratos, pero suelen emplear coenzimas o acarreadores de hidrógeno comunes, p. ej., NAD^+. Dado que las reacciones son reversibles, estas propiedades permiten que los equivalentes reductores se transfieran de manera libre dentro de la célula. Este tipo de reacción, la cual permite que un sustrato se oxide a expensas de otro, es de particular utilidad para permitir que ocurran procesos oxidativos en ausencia de oxígeno, como durante la fase anaeróbica de la glucólisis (figura 17-2).
2. Transferencia de electrones en la **cadena respiratoria** del transporte de electrones desde sustrato hacia oxígeno (figura 13-3).

* El término "oxidasa" a veces se usa de modo colectivo para denotar todas las enzimas que catalizan reacciones que comprenden oxígeno molecular.

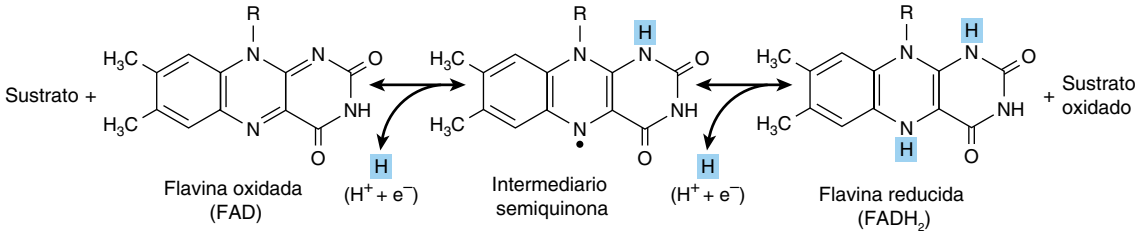


FIGURA 12-2 Oxidación y reducción del anillo isoaloxazina en nucleótidos flavina por medio de un intermediario semiquinona. En reacciones de oxidación, la flavina (p. ej., FAD) acepta dos electrones y dos H^+ en dos pasos, lo que forma el intermediario semiquinona seguido por la flavina reducida (p. ej., $FADH_2$) y el sustrato es oxidado. En la reacción inversa (reducción), la flavina reducida cede dos electrones y dos H^+ de modo que queda oxidada (p. ej., FAD), y el sustrato es reducido.

Muchas deshidrogenasas dependen de coenzimas nicotinamida

Estas deshidrogenasas usan **nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺)** o **nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP⁺)** —o ambos— que se forman en el cuerpo a partir de la vitamina **niacina** (capítulo 44). En la **figura 12-4** se muestra la estructura del NAD^+. El $NADP^+$ tiene un grupo fosfato esterificado al 2' hidroxilo de su porción adenosina, pero por lo demás es idéntico al NAD^+. Las formas oxidadas de ambos nucleótidos tienen una carga positiva en el átomo de nitrógeno de la porción nicotinamida (figura 12-4). Las coenzimas son reducidas por el sustrato específico de la deshidrogenasa, y reoxidadas por un aceptor idóneo de electrón. Son capaces de disociarse libremente y de manera reversible de sus coenzimas respectivas.

En general, las **deshidrogenasas enlazadas a NAD** catalizan reacciones de oxidación y reducción del tipo:



Cuando un sustrato es oxidado, pierde dos átomos de hidrógeno y dos electrones. Un H^+ y ambos electrones son aceptados por NAD^+ para formar NADH, y el otro H^+ es liberado (figura 12-4). Muchas de esas reacciones ocurren en las vías de metabolismo oxidativas, particularmente en la glucólisis (capítulo 17) y el ciclo del ácido cítrico (capítulo 16). El NADH es generado en estas vías por medio de la oxidación de moléculas de combustible, y el NAD^+ es regenerado mediante la oxidación de NADH conforme transfiere los electrones al O_2 por medio de la cadena respiratoria en las mitocondrias, un proceso que lleva a la formación de ATP (capítulo 13). Las **deshidrogenasas enlazadas a NADP** se encuentran de manera característica en vías biosintéticas donde se requieren reacciones reductivas, como en la vía extramitocondrial de síntesis de ácidos grasos (capítulo 23) y de síntesis de esteroides (capítulo 26) —y en la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20)—.

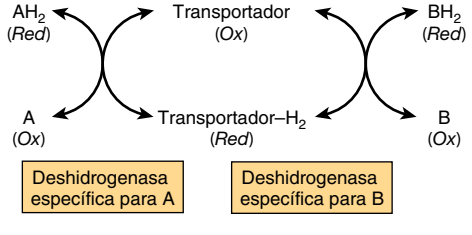
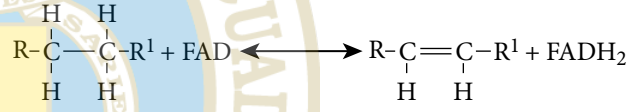


FIGURA 12-3 Oxidación de un metabolito catalizada por deshidrogenasas acopladas.

Otras deshidrogenasas dependen de la riboflavina

Los **grupos flavina, como FMN y FAD** están asociados con deshidrogenasas, así como con oxidasas, según se describió. El FAD es el aceptor de electrones en las reacciones del tipo:



El FAD acepta dos electrones y dos H^+ en la reacción (figura 12-2), lo cual forma $FADH_2$. Los grupos flavina por lo general están más estrechamente unidos a sus apoenzimas que las coenzimas nicotinamida. Casi todas las **deshidrogenasas enlazadas con riboflavina** están relacionadas con el transporte de electrones en (o con) la cadena respiratoria (capítulo 13). La **NADH deshidrogenasa** actúa como un acarreador de electrones entre el NADH y los componentes de potencial redox más alto (figura 13-3). Otras deshidrogenasas, como la **succinato deshidrogenasa, acil-CoA deshidrogenasa** y **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial**, transfieren equivalentes reductores de manera directa desde el sustrato hacia la cadena respiratoria (figura 13-5). Otra función de las deshidrogenasas dependientes de flavina estriba en la deshidrogenación (por medio de la **dihidrolipoil deshidrogenasa**) de lipoato reducido, intermediario en la descarboxilación oxidativa de piruvato y α-cetoglutarato (figuras 13-5 y 18-5). La **flavoproteína transferidora de electrones (ETF)** es un acarreador intermediario de electrones entre la acil-CoA deshidrogenasa y la cadena respiratoria (figura 13-5).

Los citocromos también pueden considerarse deshidrogenasas

Los **citocromos** son hemoproteínas que contienen hierro en las cuales el átomo de hierro oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante la oxidación y reducción. Excepto por la citocromo oxidasa (ya descrita), se clasifican como deshidrogenasas. En la cadena respiratoria, participan como acarreadores de electrones desde flavoproteínas por un lado hacia citocromo oxidasa por el otro

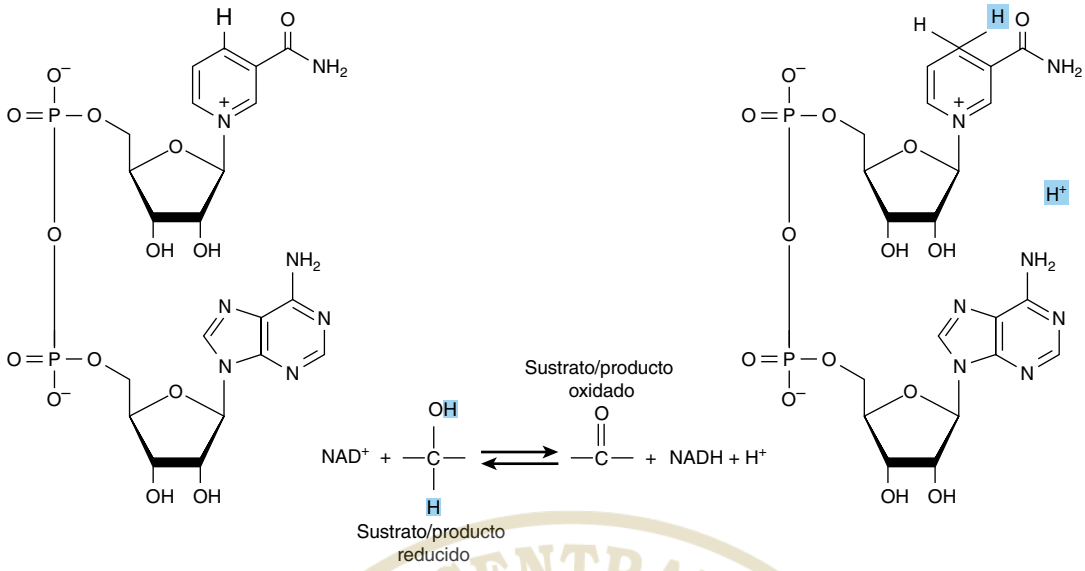


FIGURA 12-4 Oxidación y reducción de coenzimas nicotinamida. Las coenzimas nicotinamida constan de un anillo nicotinamida enlazado a una adenosina por medio de una ribosa y un grupo fosfato, lo cual forma un dinucleótido. Se muestran el NAD^+/NADH, pero el $NADP^+$/NADPH son idénticos excepto por que tienen un grupo fosfato esterificado al 2'OH de la adenosina. Una reacción de oxidación comprende la transferencia de dos electrones y un H^+ desde el sustrato hacia el anillo de nicotinamida del NAD^+, lo cual forma NADH y el producto oxidado. El hidrógeno restante del par de hidrógenos eliminado del sustrato permanece libre como un ion hidrógeno. El NADH es oxidado a NAD^+ por la reacción inversa.

(figura 13-5). Varios citocromos identificables se encuentran en la cadena respiratoria, citocromos *b*, c_1, *c*, y citocromo oxidasa. Los citocromos también se encuentran en otras ubicaciones, por ejemplo, el retículo endoplásmico (citocromos P450 y b_5), y en células vegetales, bacterias y levaduras.

LAS HIDROPEROXIDASAS USAN PERÓXIDO DE HIDRÓGENO O UN PERÓXIDO ORGÁNICO COMO SUSTRATO

Dos tipos de enzimas que se encuentran tanto en animales como en vegetales caen dentro de la categoría de **hidroperoxidasa**: **peroxidasas** y **catalasa**.

Las hidroperoxidasas desempeñan un papel importante en la protección del cuerpo contra los efectos perjudiciales de **especies reactivas de oxígeno (ROS)**. Las ROS son moléculas que contienen oxígeno, altamente reactivas, como los peróxidos que se forman durante el metabolismo normal, pero pueden ser perjudiciales si se acumulan. Se cree que contribuyen a la causa de enfermedades como cáncer y aterosclerosis, así como al proceso de envejecimiento en general (capítulos 21, 44, 54).

Las peroxidasas reducen peróxidos usando diversos aceptores de electrones

Las peroxidasas se encuentran en la leche y en los leucocitos, las plaquetas y otros tejidos comprendidos en el metabolismo de eicosanoides (capítulo 23). El grupo prostético es el **protohem**. En la reacción catalizada por peroxidasa, el peróxido de hidrógeno se reduce a expensas de varias sustancias que actuarán como aceptores de electrones, como ascorbato (vitamina C), quinonas y citocromo *c*. La reacción catalizada por peroxidasa es compleja, pero la reacción general es como sigue:

$$H_2O_2 + AH_2 \xrightarrow{\text{PEROXIDASA}} 2H_2O + A$$

En los eritrocitos y otros tejidos, la enzima **glutatión peroxidasa**, que contiene **selenio** como un grupo prostético, cataliza la destrucción del H_2O_2 y de hidroperóxidos lípidos mediante la conversión de glutatión reducido hacia su forma oxidada, lo que protege a los lípidos de membrana y a la hemoglobina contra oxidación por peróxidos (capítulo 21).

La catalasa usa peróxido de hidrógeno como donador, y como aceptor, de electrón

La **catalasa** es una hemoproteína que contiene cuatro grupos hem. Puede actuar como una peroxidasa, y catalizar reacciones del tipo antes mostrado, pero también es capaz de catalizar la desintegración del H_2O_2 formado por la acción de oxigenasas, a agua y oxígeno:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{CATALASA}} 2H_2O + O_2$$

En esta reacción se usan una molécula de H_2O_2 como un sustrato donador de electrón, y otra molécula de H_2O_2 como un oxidante o aceptor de electrón. Es una de las reacciones enzimáticas más rápidas conocidas; destruye millones de moléculas de H_2O_2 en potencia perjudiciales por segundo. En casi todas las circunstancias *in vivo*, la actividad de peroxidasa de la catalasa parece ser favorecida. La catalasa se encuentra en sangre, médula

ósea, mucosas, riñones e hígado. Los **peroxisomas** se encuentran en muchos tejidos, entre ellos el hígado. Tienen alto contenido de oxidasas y de catalasa. De este modo, las enzimas que originan H_2O_2 están agrupadas con la enzima que lo destruye. Con todo, los sistemas de transporte de electrones mitocondrial y microsómico, así como la xantina oxidasa, deben considerarse fuentes adicionales de H_2O_2.

LAS OXIGENASAS CATALIZAN LA TRANSFERENCIA E INCORPORACIÓN DIRECTAS DE OXÍGENO HACIA UNA MOLÉCULA DE SUSTRATO

Las oxigenasas se encargan de la síntesis o degradación de muchos tipos diferentes de metabolitos. Catalizan la incorporación de oxígeno hacia una molécula de sustrato en dos pasos: 1) el oxígeno se une a la enzima en el sitio activo y 2) el oxígeno unido se reduce o transfiere hacia el sustrato. Las oxigenasas pueden dividirse en dos subgrupos: dioxigenasas y monooxigenasas.

Las dioxigenasas incorporan ambos átomos de oxígeno molecular hacia el sustrato

La reacción básica catalizada por dioxigenasas se muestra a continuación:

$$A + O_2 \rightarrow AO_2$$

Los ejemplos son las enzimas hepáticas, **homogentisato dioxigenasa** (oxidasa) y **3-hidroxiantranilato dioxigenasa** (oxidasa) que contienen hierro, y **L-triptófano dioxigenasa** (triptófano pirrolasa) (capítulo 29), que utiliza hem.

Las monooxigenasas (oxidasas de función mixta, hidroxilasas) incorporan sólo un átomo de oxígeno molecular hacia el sustrato

El otro átomo de oxígeno se reduce a agua; para este propósito se requiere un donador de electrón adicional o cosustrato (Z).

$$A—H + O_2 + ZH_2 \rightarrow A—OH + H_2O + Z$$

Los citocromos P450 son monooxigenasas importantes en el metabolismo de esteroides, y para la destoxificación de muchos fármacos

Los **citocromos P450** son una importante superfamilia de monooxigenasas que contienen hem y se han encontrado más de 50 de esas enzimas en el genoma humano. Están ubicadas principalmente en el retículo endoplasmático en el hígado y el intestino, pero también se encuentran en las mitocondrias en algunos tejidos. Los citocromos participan en una cadena de transporte de electrones en la cual tanto el NADH como el NADPH pueden donar equivalentes reductores. Los electrones se pasan al citocromo P450 en dos tipos de reacción que comprenden FAD o FMN. Los sistemas clase I constan de una enzima reductasa que contiene FAD, una proteína de azufre hierro (Fe_2S_2), y la proteína hem P450, mientras que los sistemas clase II contienen citocromo P450 reductasa que pasa electrones del $FADH_2$ al FMN (**figura 12-5**). Los sistemas clases I y II se encuentran bien caracterizados, pero durante los años recientes se han identificado

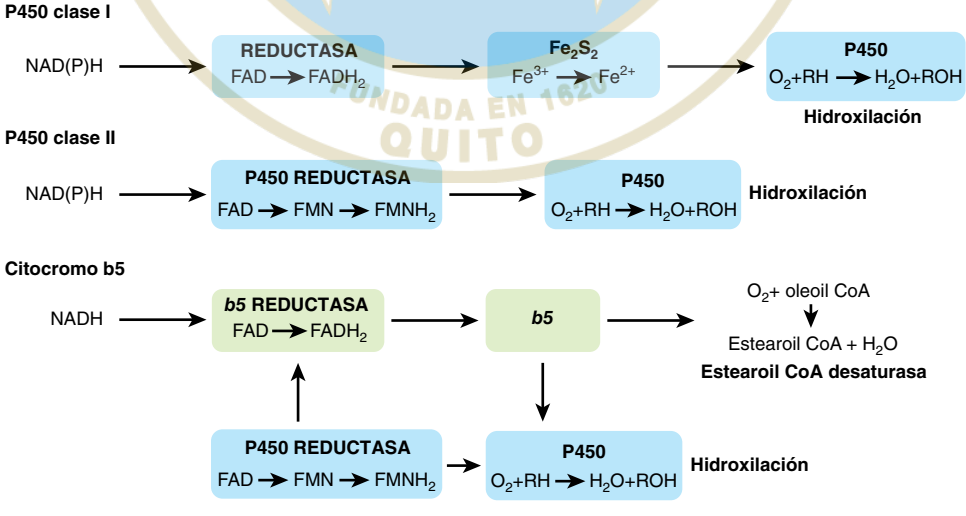


FIGURA 12-5 Citocromos P450 y b_5 en el retículo endoplasmático. Casi todos los citocromos P450 son clase I o clase II. Además del citocromo P450, los sistemas clase I contienen un FAD pequeño que contiene reductasa y una proteína de hierro azufre, y los sistemas clase 2 contienen citocromo P450 reductasa, que incorpora FAD y FMN. Los citocromos P450 catalizan muchas reacciones de hidroxilación de esteroide, y pasos de destoxificación de fármacos. El citocromo b_5 actúa conjuntamente con la citocromo b_5 reductasa que contiene FAD en la reacción de la acil graso CoA desaturasa (p. ej., estearoil CoA desaturasa), y trabaja también junto con los citocromos P450 en la destoxificación de fármacos. Puede aceptar electrones provenientes de la citocromo P450 reductasa por medio de la citocromo b_5 reductasa, y los dona al citocromo P450.

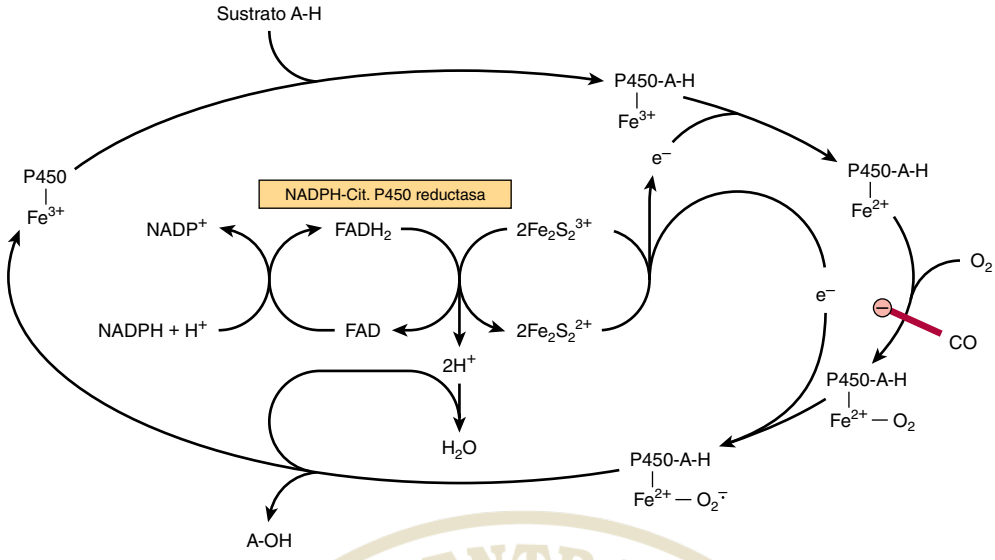


FIGURA 12-6 Ciclo de la citocromo P450 hidroxilasa. El sistema mostrado es típico de las hidroxilasas esteroides de la corteza suprarrenal. La citocromo P450 hidroxilasa microsómica hepática no necesita la proteína hierro-azufre Fe_2S_2. El monóxido de carbono (CO) inhibe el paso indicado.

otros citocromos P450 que no caen dentro de una u otra categoría. En el paso final el oxígeno acepta los electrones que provienen del citocromo P450 y es reducido; un átomo es incorporado hacia H_2O, y el otro hacia el sustrato, lo que por lo general da lugar a su hidroxilación. Esta serie de reacciones enzimáticas, conocidas como el **ciclo de la hidroxilasa**, se ilustra en la **figura 12-6**. En el retículo endoplasmático del hígado, los citocromos P450 se encuentran junto con otra proteína que contiene hem, el **citocromo b_5** (figura 12-5), y juntos desempeñan un importante papel en el metabolismo de fármacos y la destoxificación de los mismos. El citocromo b_5 también tiene una función crucial como una ácido graso desaturasa. Juntos, los citocromos P450 y b_5 se encargan de alrededor de 75% de la modificación y degradación de fármacos que ocurre en el organismo. El índice de destoxificación de muchos fármacos medicinales por citocromos P450 determina la duración de su acción. El benzpireno, la aminopirina, la anilina, morfina y benzfetamina son hidroxilados, lo que aumenta su solubilidad y ayuda a su excreción. Muchos medicamentos, como el fenobarbital, tienen la capacidad para inducir la síntesis de citocromos P450.

Los sistemas de citocromo P450 mitocondriales se encuentran en tejidos esteroidogénicos como corteza suprarrenal, testículos, ovarios y placenta, y participan en la biosíntesis de hormonas esteroides a partir del colesterol (hidroxilación en C_{22} y C_{20} en la división de la cadena lateral, y en las posiciones 11β y 18). Además, los sistemas renales que catalizan 1α- y 24-hidroxilaciones del 25-hidroxicolecalciferol en el metabolismo de la vitamina D —y colesterol 7α-hidroxilasa y esterol 27-hidroxilasa incluidas en la biosíntesis de ácidos biliares en el hígado a partir del colesterol (capítulos 26 y 41)— son enzimas P450.

LA SUPERÓXIDO DISMUTASA PROTEGE LOS ORGANISMOS AERÓBICOS CONTRA TOXICIDAD POR OXÍGENO

La transferencia de un electrón único al O_2 genera el **radical libre anión superóxido** ($O_2^{\cdot-}$) en potencia perjudicial, que da lugar a reacciones en cadena de radical libre (capítulo 21), lo cual amplifica sus efectos destructivos. La facilidad con la cual puede formarse superóxido a partir de oxígeno en los tejidos, y la presencia de **superóxido dismutasa (SOD)**, la enzima de la cual depende su eliminación en todos los organismos aeróbicos (aunque no en anaerobios obligados), indican que la toxicidad potencial del oxígeno se debe a su conversión en superóxido.

El superóxido se forma cuando flavinas reducidas —presentes, por ejemplo, en la xantina oxidasa— se vuelven a oxidar de manera univalente por oxígeno molecular.

$$\text{EnZ} - \text{Flavina} - \text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{EnZ} - \text{Flavina} - \text{H} + \text{O}_2^{\cdot-} + \text{H}^+$$

El superóxido puede reducir citocromo *c* oxidado

$$\text{O}_2^{\cdot-} + \text{Cit}\,c\,(\text{Fe}^{3+}) \rightarrow \text{O}_2 + \text{Cit}\,c\,(\text{Fe}^{2+})$$

o ser eliminado por la superóxido dismutasa, que cataliza la conversión de $O_2^{\cdot-}$ en oxígeno y peróxido de hidrógeno.

En esta reacción, el superóxido actúa como oxidante y como reductor. De este modo, la superóxido dismutasa protege a los organismos aerobios contra los efectos perjudiciales potenciales del superóxido. La enzima se encuentra en todos los tejidos aerobios en las mitocondrias y el citosol. Si bien la exposición de ani-

males a una atmósfera de oxígeno a 100% causa un incremento adaptativo de la SOD, sobre todo en pulmones, la exposición prolongada conduce a daño pulmonar y muerte. Los antioxidantes, por ejemplo, α-tocoferol (vitamina E), actúan como recolectores de radicales libres y reducen la toxicidad del oxígeno (capítulo 44).

RESUMEN

- En sistemas biológicos, al igual que los sistemas químicos, la oxidación (pérdida de electrones) siempre se acompaña de reducción de un aceptor de electrón.
- Las oxidorreductasas tienen diversas funciones en el metabolismo; las oxidasas y las deshidrogenasas desempeñan funciones importantes en la respiración; las hidroperoxidasas protegen al cuerpo contra daño por radicales libres, y las oxigenasas median la hidroxilación de fármacos y esteroides.
- Los tejidos están protegidos contra toxicidad por oxígeno causada por el radical libre superóxido por medio de la enzima específica superóxido dismutasa.

REFERENCIAS

Babcock GT, Wikstrom M: Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. Nature 1992;356:301.

Coon MJ: Cytochrome P450: Nature's most versatile biological catalyst. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005;4:1.

Dickinson BC, Chang CJ: Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses. Nature Chem Biol 2011;7:504.

Harris DA: *Bioenergetics at a Glance: An Illustrated Introduction*. Blackwell Publishing, 1995.

Johnson F, Giulivi C: Superoxide dismutases and their impact upon human health. Mol Aspects Med 2005;26.

Nicholls DG, Ferguson SJ: *Bioenergetics*, 4th ed. Elsevier, 2013.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO

13

La cadena respiratoria y fosforilación oxidativa

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la estructura de doble membrana de las mitocondrias, e indicar la ubicación de diversas enzimas.
- Apreciar que casi toda la energía proveniente de la oxidación de sustratos energéticos (grasas, carbohidratos, aminoácidos) es liberada en mitocondrias como equivalentes reductores, que se transfieren mediante un proceso llamado transporte de electrones, por medio de una serie de transportadores o complejos de oxidorreducción (redox) embebidos en la membrana mitocondrial interna, conocidos como la cadena respiratoria, hasta que finalmente se hace que reaccionen con oxígeno para formar agua.
- Describir los cuatro complejos proteínicos involucrados en la transferencia de electrones por la cadena respiratoria, y explicar los papeles de las flavoproteínas, las proteínas hierro-azufre y la coenzima Q.
- Entender cómo la coenzima Q acepta electrones provenientes del NADH mediante el complejo I, y del $FADH_2$ por medio del complejo II.
- Indicar cómo los electrones se transfieren desde coenzima Q reducida hacia citocromo *c* por medio del complejo III en el ciclo Q.
- Explicar el proceso mediante el cual el citocromo *c* reducido es oxidado, y el oxígeno es reducido a agua mediante el complejo IV.
- Entender cómo el transporte de electrones por la cadena respiratoria genera un gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna, lo que lleva a la acumulación de una fuerza motriz de protón que genera ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa.
- Describir la estructura de la enzima ATP sintasa, y explicar cómo funciona como un motor giratorio para producir ATP a partir de ADP y Pi.
- Identificar las cinco condiciones que controlan la tasa de respiración en mitocondrias, y entender que la oxidación de equivalentes reductores por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa se encuentran estrechamente acoplados en casi todas las circunstancias, de modo que una no puede proceder a menos que la otra esté funcionando.
- Indicar ejemplos de venenos comunes que bloquean la respiración o la fosforilación oxidativa, e identificar su sitio de acción.
- Explicar, con ejemplos, de qué modo los desacopladores pueden actuar como venenos al disociar la oxidación por medio de la cadena respiratoria, de la fosforilación oxidativa, pero también pueden tener un papel fisiológico en la generación de calor corporal.
- Explicar el papel de los transportadores de intercambio presentes en la membrana mitocondrial interna al permitir el paso de iones y metabolitos mientras se preservan los equilibrios electroquímico y osmótico.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos aerobios pueden captar una proporción mucho mayor de la energía libre disponible de los sustratos respiratorios que los organismos anaerobios. La mayor parte de este proceso tiene lugar dentro de las mitocondrias, que se han denominado las "centrales de energía" de la célula. La respiración está acoplada a la generación del intermediario de alta energía, ATP (capítulo 11), por medio de **fosforilación oxidativa**. Diversos fármacos (p. ej., **amobarbital**) y venenos (p. ej., **cianuro, monóxido de carbono**) inhiben la fosforilación oxidativa, por lo general con consecuencias mortales. Se han señalado varios defectos hereditarios de las mitocondrias, que afectan componentes de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa. Los pacientes muestran **miopatía** y **encefalopatía**, y suelen tener **acidosis láctica**.

ENZIMAS ESPECÍFICAS ESTÁN ASOCIADAS CON COMPARTIMENTOS SEPARADOS POR LAS MEMBRANAS MITOCONDRIALES

La **matriz** mitocondrial está encerrada por una **doble membrana**. La **membrana externa** es permeable a casi todos los metabolitos, y la **membrana interna** es selectivamente permeable (**figura 13-1**). La membrana externa se caracteriza por la presencia de diversas enzimas, entre ellas la **acil-CoA sintetasa** y **glicerolfosfato aciltransferasa**. Otras enzimas, incluyendo la **adenilil cinasa** y la **creatina cinasa** se encuentran en **el espacio intermembrana**. El fosfolípido **cardiolipina** está concentrado en la membrana interna, junto con las enzimas de **la cadena respiratoria, ATP sintasa** y diversos **transportadores de membrana**.

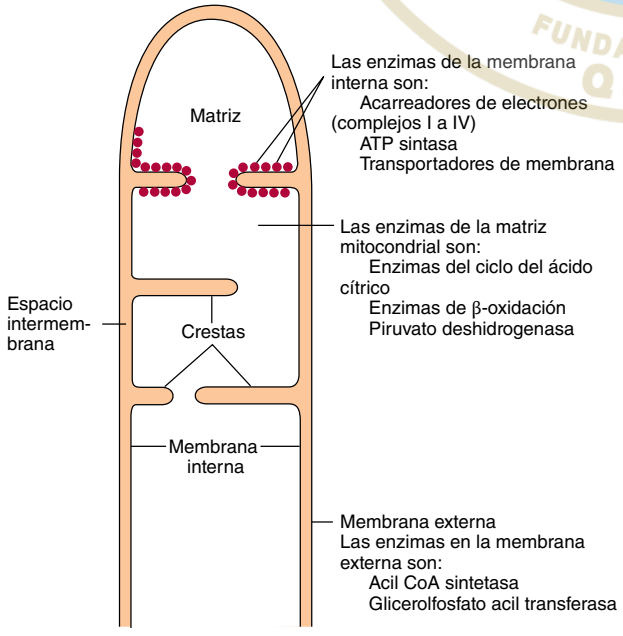


FIGURA 13-1 Estructura de las membranas mitocondriales. Note que la membrana interna contiene muchos pliegues (crestas).

LA CADENA RESPIRATORIA OXIDA EQUIVALENTES REDUCTORES Y ACTÚA COMO UNA BOMBA DE PROTONES

Casi toda la energía que se libera durante la oxidación de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos queda disponible dentro de las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o electrones) (**figura 13-2**). Las enzimas del ciclo del ácido cítrico y la β-oxidación (capítulos 22 y 16), los **complejos de la cadena respiratoria**, y la maquinaria para la **fosforilación oxidativa**, se encuentran en las mitocondrias. La **cadena respiratoria** reúne y transporta equivalentes reductores, y los dirige hacia su reacción final con oxígeno para formar agua; la fosforilación oxidativa es el proceso mediante el cual la energía libre liberada se atrapa como **fosfato de alta energía**.

Los componentes de la cadena respiratoria están contenidos en cuatro complejos proteínicos grandes insertos en la membrana mitocondrial interna

Los electrones fluyen por la cadena respiratoria a través de un intervalo redox de 1.1 V desde NAD^+/NADH hacia $O_2/2H_2O$ (cuadro 12-1), y pasan por tres complejos proteínicos grandes: **NADH-Q oxidorreductasa (complejo I)**, donde se transfieren electrones desde NADH hacia la **coenzima Q (Q)** (también llamada **ubiquinona**) (figura 13-6); **Q-citocromo *c* oxidorreductasa (complejo III)**, que pasa los electrones hacia el **citocromo *c***, y **citocromo *c* oxidasa (complejo IV)**, que completa la cadena, pasa los electrones hacia O_2 y hace que se reduzca a H_2O (**figura 13-3**). Algunas sustancias con potenciales redox más positivos que NAD^+/NADH (p. ej., succinato) pasan electrones hacia Q por medio de un cuarto complejo, la **succinato-Q reductasa (complejo II)**, en lugar de mediante el complejo I. Los cuatro complejos están embebidos en la membrana mitocondrial interna, pero Q y citocromo *c* son móviles. Q se difunde con rapidez dentro de la membrana, mientras que el citocromo *c* es una proteína soluble. El flujo de electrones a través de los complejos I, III y IV da por resultado el bombeo de protones desde la matriz a través de la membrana mitocondrial interna hacia el espacio intermembrana (figura 13-7).

Las flavoproteínas y las proteínas hierro-azufre (Fe-S) son componentes de los complejos de la cadena respiratoria

Las **flavoproteínas** (capítulo 12) son componentes de importancia de los complejos I y II. El nucleótido flavina oxidado (FMN o FAD) puede reducirse en reacciones que involucran la transferencia de dos electrones (para formar $FMNH_2$ o $FADH_2$), pero también pueden aceptar un electrón para formar la semiquinona (figura 12-2). Las **proteínas hierro-azufre (proteínas hierro no hem, Fe-S)** se encuentran en los complejos I, II y III, los cuales pueden contener uno, dos o cuatro átomos de Fe enlazados a átomos de azufre inorgánico, o por medio de grupos de cisteína-SH a la proteína, o ambos (**figura 13-4**). Las Fe-S participan en reacciones de transferencia de un solo electrón en las cuales un átomo de Fe pasa por oxidorreducción entre Fe^{2+} y Fe^{3+}.

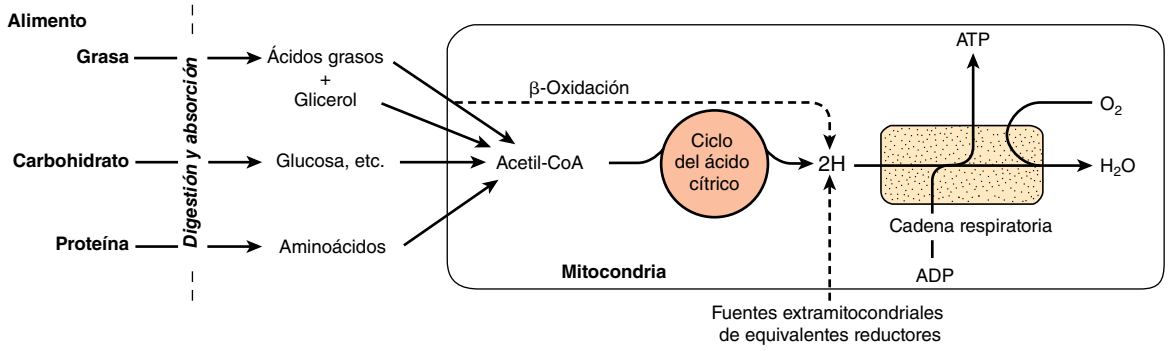


FIGURA 13-2 Función de la cadena respiratoria de mitocondrias en la conversión de energía de los alimentos en ATP. La oxidación de los principales comestibles lleva a la generación de equivalentes reductores (2H) que son recolectados por la cadena respiratoria para oxidación y generación acoplada de ATP.

Q acepta electrones mediante los complejos I y II

La NADH-Q oxidorreductasa o complejo I es una proteína grande, en forma de L, de múltiples subunidades, que cataliza la transferencia de electrones desde NADH hacia Q, junto con la transferencia de cuatro H^+ a través de la membrana:

$$NADH + Q + 5H^+_{\text{matriz}} \rightarrow NAD + QH_2 + 4H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

En un inicio los electrones se transfieren desde NADH hacia FMN, después hacia una serie de centros Fe-S y, por último, hacia Q (**figura 13-5**). En el complejo II (succinato-Q reductasa), se forma $FADH_2$ durante la conversión de succinato en fumarato en el ciclo del ácido cítrico (figura 16-3) y a continuación los electrones se pasan por medio de varios centros Fe-S hacia Q (figura 13-5). El glicerol-3-fosfato (generado en la desintegración de triacilgliceroles o a partir de la glucólisis, figura 17-2) y la acil-CoA también pasan electrones hacia Q mediante vías diferentes en que participan flavoproteínas (figura 13-5).

El ciclo Q acopla la transferencia de electrones al transporte de protones en el complejo III

Los electrones se pasan desde QH_2 hacia el citocromo *c* por medio del complejo III (Q-citocromo *c* oxidorreductasa):

$$QH_2 + 2\text{Cit}\,c_{\text{oxidado}} + 2H^+_{\text{matriz}} \rightarrow Q + 2\text{Cit}\,c_{\text{reducido}} + 4H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

Se cree que el proceso incluye **citocromos c_1, b_L y b_H**, y un **Fe-S Rieske** (un Fe-S poco común en el cual uno de los átomos de Fe

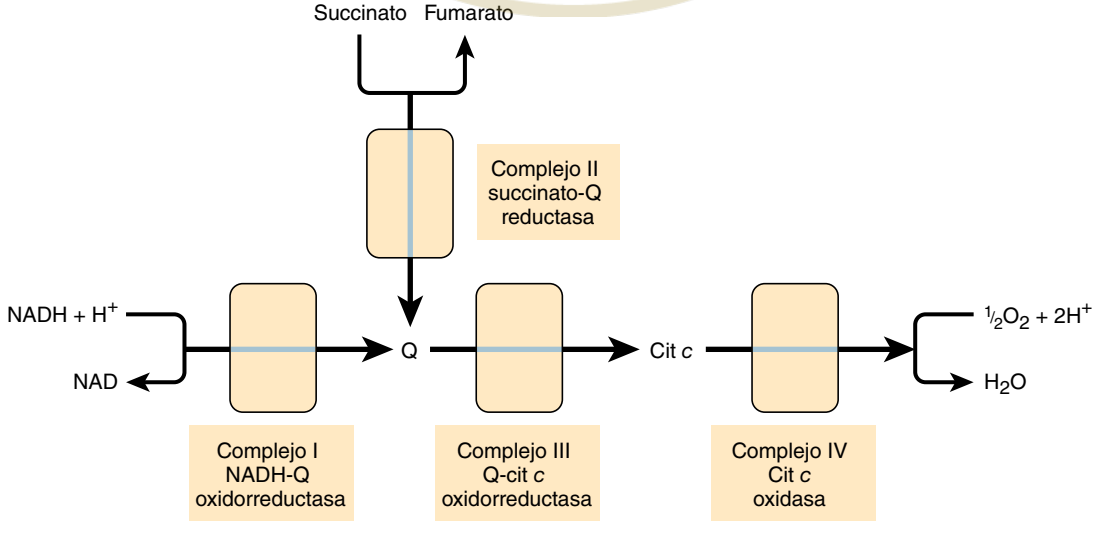


FIGURA 13-3 Perspectiva general del flujo de electrones por la cadena respiratoria. (cit, citocromo; Q, coenzima Q o ubiquinona.)

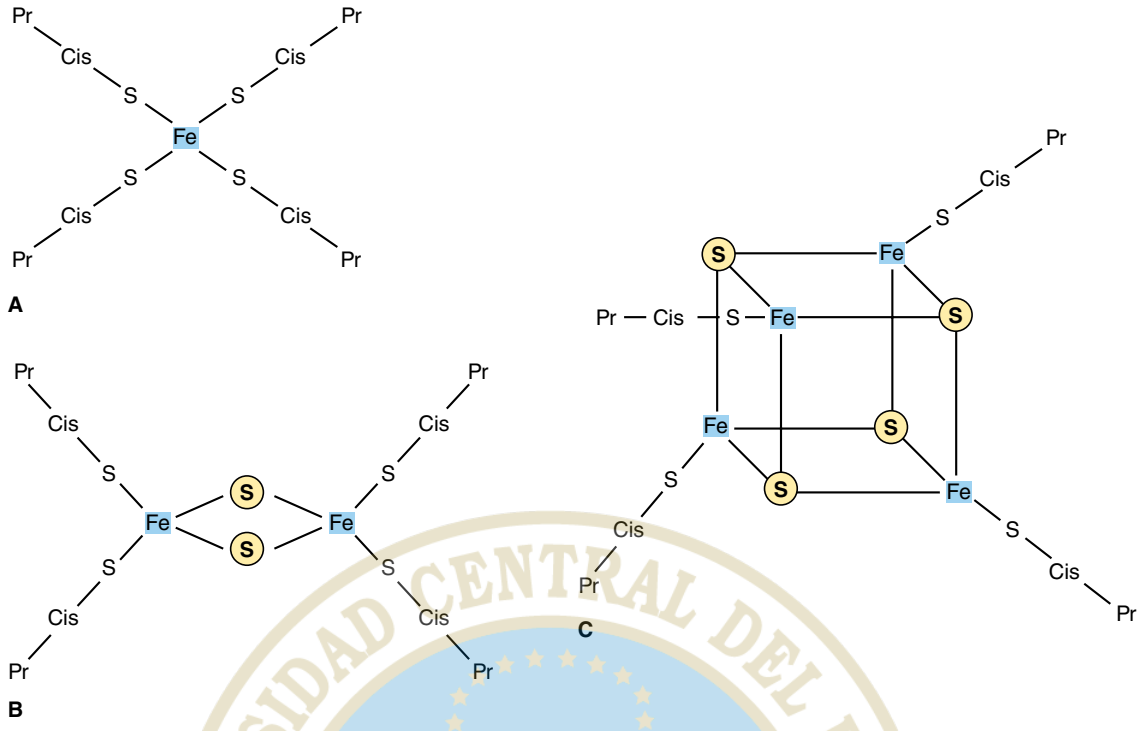


FIGURA 13-4 **Proteínas de hierro-azufre (Fe-S). A)** La Fe-S más simple con un enlace de Fe por cuatro cisteínas. **B)** 2Fe-2S. **C)** centro 4Fe-4S. (Cis, cisteína; Pr, apoproteína; Ⓢ, azufre inorgánico.)

está enlazado a dos residuos de histidina más que a dos residuos de cisteína) (figura 13-5), y se conoce como el **ciclo Q** (**figura 13-6**). Q puede existir en tres formas, la quinona oxidada, el quinol reducido o la semiquinona (figura 13-6). Esta última se forma de modo transitorio durante el ciclo, una vuelta del cual origina la oxidación de $2QH_2$ a Q, lo que libera $4H^+$ hacia el espacio intermembrana, y la reducción de una Q a QH_2, lo que hace que $2H^+$ sean captados desde la matriz (figura 13-6). Note que aun cuando Q acarrea dos electrones, los citocromos acarrean sólo uno; de esta manera, la oxidación de un QH_2 está acoplada a la reducción de dos moléculas de citocromo *c* mediante el ciclo Q.

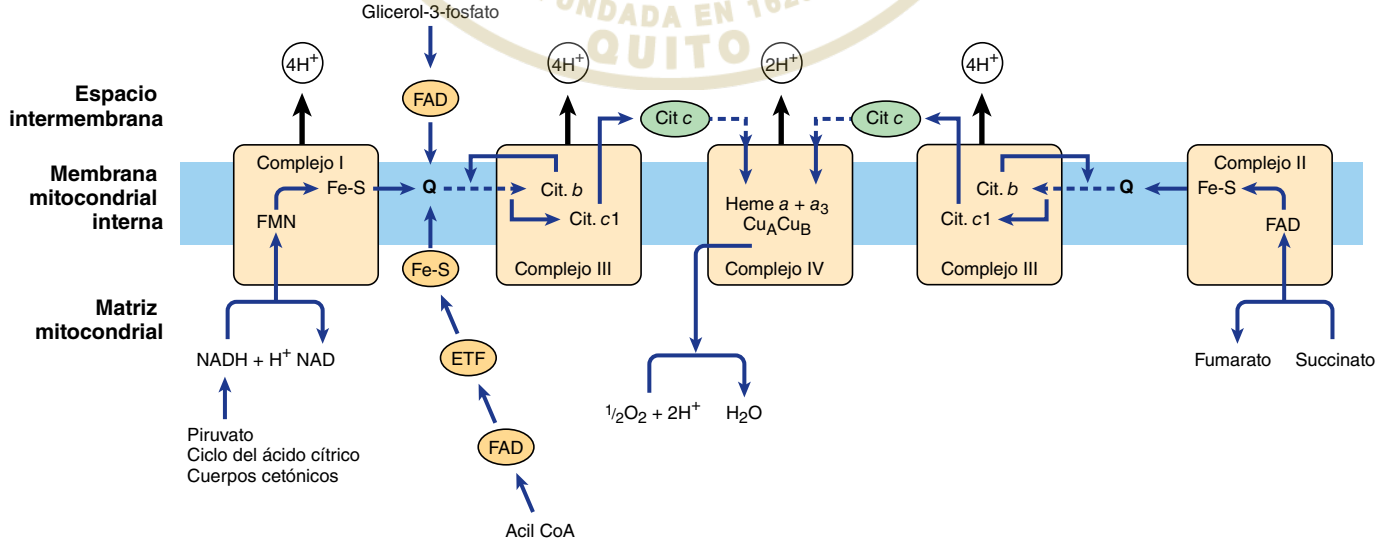


FIGURA 13-5 **Flujo de electrones a través de los complejos de cadena respiratoria, que muestra los puntos de entrada de equivalentes reductores desde sustratos importantes.** Q y cit. son componentes móviles del sistema según se indica por las flechas punteadas. El flujo a través del complejo III (el ciclo Q) se muestra con mayor detalle en la figura 13-6. (cit, citocromo; ETF, flavoproteína transferidora de electrón; Fe-S, proteína hierro-azufre; Q, coenzima Q o ubiquinona.)

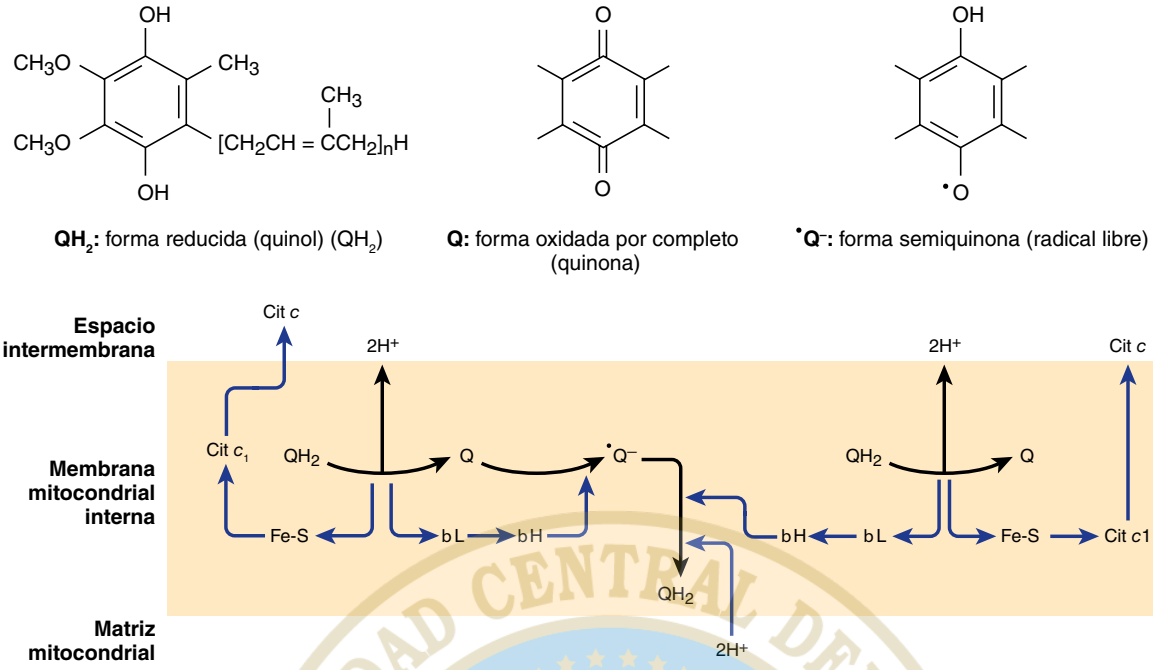


FIGURA 13-6 **El ciclo Q.** Durante la oxidación de QH_2 a Q, un electrón es donado al cit *c* mediante un Fe-S de Rieske y cit c_1, y el segundo a una Q para formar la semiquinona por medio del cit b_L y cit b_H; se libera $2H^+$ hacia el espacio intermembrana. A continuación ocurre un proceso similar con un segundo QH_2, pero en este caso el segundo electrón es donado a la semiquinona, lo que la reduce a QH_2, y $2H^+$ son captados desde la matriz. (cit, citocromo; Fe-S, proteína hierro-azufre; Q, coenzima Q o ubiquinona.)

El oxígeno molecular se reduce hacia agua por medio del complejo IV

El complejo IV (citocromo *c* oxidasa) oxida el citocromo *c* reducido, con la reducción concomitante de O_2 hacia dos moléculas de agua:

$$4\text{Cit}\,c_{\text{reducido}} + O_2 + 8H^+_{\text{matriz}} \rightarrow$$
$$4\text{Cit}\,c_{\text{oxidado}} + 2H_2O + 4H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

Esta transferencia de cuatro electrones desde el citocromo *c* hacia O_2 comprende **dos grupos hem**, ***a*** **y** ***a*****$_3$**, y Cu (figura 13-5). Los electrones se pasan inicialmente a un centro de Cu (Cu_A), que contiene átomos 2Cu enlazados a dos grupos proteína cisteína-SH (que semejan una Fe-S), luego en secuencia hacia hem *a*, hem a_3, un segundo centro de Cu, Cu_B, que está enlazado a hem a_3, y por último a O_2. De los ocho H^+ eliminados de la matriz, cuatro se usan para formar dos moléculas de agua, y cuatro se bombean hacia el espacio intermembrana. De este modo, por cada par de electrones que pasa por la cadena desde NADH o $FADH_2$, el complejo IV bombea $2H^+$ a través de la membrana. El O_2 permanece estrechamente unido al complejo IV hasta que se reduce por completo, y esto minimiza la liberación de intermediarios en potencia perjudiciales, como aniones superóxido, o peróxido, que se forman cuando el O_2 acepta uno o dos electrones, respectivamente (capítulo 12).

EL TRANSPORTE DE ELECTRONES MEDIANTE LA CADENA RESPIRATORIA CREA UN GRADIENTE DE PROTÓN QUE IMPULSA LA SÍNTESIS DE ATP

El flujo de electrones por la cadena respiratoria genera ATP por medio del proceso de **fosforilación oxidativa.** La **teoría quimiosmótica**, propuesta por Peter Mitchell en 1961, postula que los dos procesos están acoplados mediante un gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna, de manera que la **fuerza motriz de protón** causada por la diferencia de potencial electroquímico (negativa en el lado de la matriz) impulsa el mecanismo de síntesis de ATP. Como se mencionó, los complejos I, III y IV actúan como **bombas de protones**. Dado que la membrana mitocondrial interna es impermeable a iones en general, y en especial a protones, éstos se acumulan en el espacio intermembrana, lo que crea la fuerza motriz de protón predicha por la teoría quimiosmótica.

Una ATP sintasa ubicada en la membrana funciona como un motor rotatorio para formar ATP

La fuerza motriz de protón impulsa una **ATP sintasa** ubicada en la membrana que en presencia de P_i + ADP forma ATP. La ATP sintasa está embebida en la membrana interna, junto con los complejos de la cadena respiratoria (**figura 13-7**). Varias subunidades de la proteína forman una estructura parecida a bola

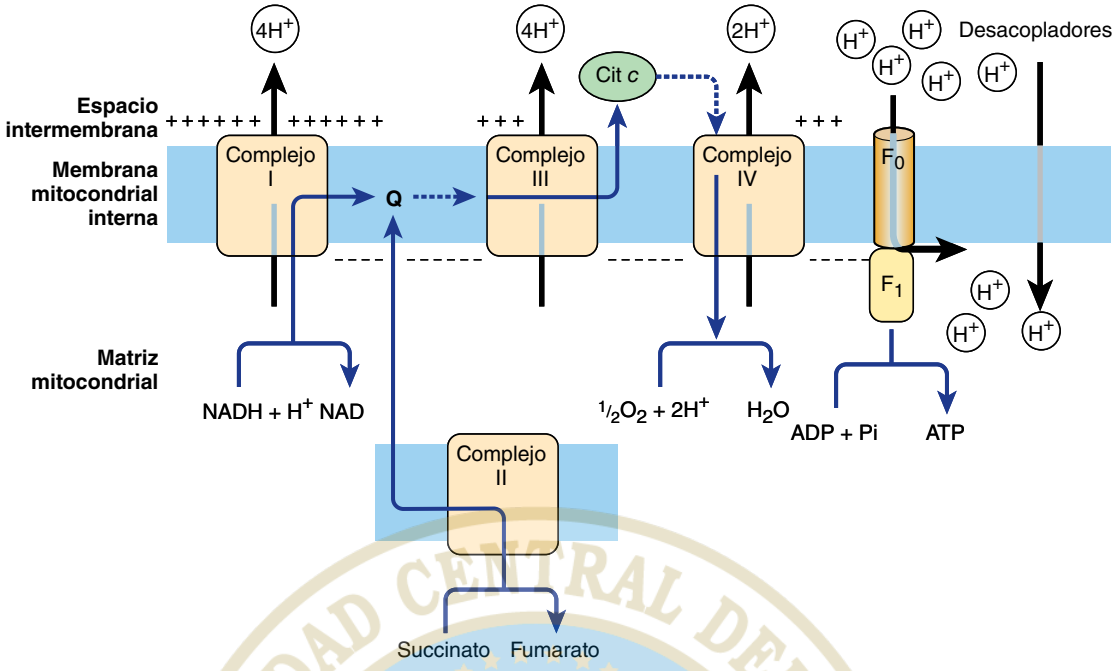


FIGURA 13-7 **La teoría quimiosmótica de la fosforilación oxidativa**. Los complejos II, III y IV actúan como bombas de protón, lo que crea un gradiente de protón a través de la membrana, que es negativa en el lado de la matriz. La fuerza motriz de protón generada impulsa la síntesis de ATP conforme los protones fluyen de regreso hacia la matriz por medio de la enzima ATP sintasa (figura 13-8). Los desacopladores aumentan la permeabilidad de la membrana a iones, lo que colapsa el gradiente de protón al permitir que el H^+ pase sin atravesar la ATP sintasa y, así, desacopla el flujo de electrón a través de los complejos respiratorios, de la síntesis de ATP. (Q, coenzima Q o ubiquinona; cit., citocromo.)

alrededor de un eje conocido como F_1, que se proyecta hacia la matriz y contiene el mecanismo de fosforilación (**figura 13-8**). F_1 está fijo a un complejo de proteína de membrana conocido como F_0, que también consta de varias subunidades proteínicas. F_0 abarca la membrana y forma un canal de protones. El flujo de estos últimos a través de F_0 hace que rote, lo que impulsa la producción de ATP en el complejo F_1 (figuras 13-7 y 13-8). Se cree que esto ocurre por medio de un **mecanismo de cambio de unión** en el cual, a medida que el eje rota, la conformación de las subunidades β en F_1 cambia desde una que se une con firmeza al ATP hacia una que libera ATP y se une a ADP y P_i, de modo que puede formarse el siguiente ATP. Los estimados sugieren que por cada NADH oxidado, los complejos I y III translocan cuatro protones cada uno, y el complejo IV transloca dos.

LA CADENA RESPIRATORIA PROPORCIONA LA MAYOR PARTE DE LA ENERGÍA CAPTADA DURANTE EL CATABOLISMO

El ADP captura, en forma de fosfato de alta energía, una proporción importante de la energía libre derivada de los procesos catabólicos. El ATP resultante se ha denominado la **"moneda" de energía** de la célula porque pasa esta energía libre para impulsar los procesos que requieren energía (figura 11-6).

Hay una captación directa neta de dos grupos fosfato de alta energía en las reacciones glucolíticas (cuadro 17-1). En el ciclo del ácido cítrico se captan dos fosfatos de alta energía más por mol de glucosa durante la conversión de succinil CoA en succinato (capítulo 16). Todas estas fosforilaciones sobrevienen en el ámbito de **sustrato**. Por cada mol de sustrato oxidado mediante los complejos I, III y IV en la cadena respiratoria (es decir, por medio de NADH), se forman 2.5 mol de ATP por cada 0.5 mol de O_2 consumido; esto es, la proporción P:O = 2.5 (figura 13-7). Por otra parte, cuando un mol de sustrato (p. ej., succinato o 3-fosfoglicerato) se oxida por medio de los complejos II, III y IV, sólo se forma 1.5 mol de ATP; es decir, P:O = 1.5. Estas reacciones se conocen como **fosforilación oxidativa en el ámbito de la cadena respiratoria**. Al tomar en cuenta estos valores, se estima que cerca de 90% de los fosfatos de alta energía producidos a partir de la oxidación completa de 1 mol de glucosa se obtiene mediante fosforilación oxidativa acoplada a la cadena respiratoria (cuadro 17-1).

El control respiratorio asegura un aporte constante de ATP

La disponibilidad de ADP puede controlar el índice de respiración de las mitocondrias, lo cual se debe a que la oxidación y fosforilación están **firmemente acopladas**; esto es, la oxidación no puede proceder por la cadena respiratoria sin fosforilación concomitante de ADP. En el **cuadro 13-1** se muestran las cinco condiciones que controlan el índice de respiración en las mitocondrias. Casi todas las células en el estado en reposo se encuentran en **estado 4**, y la disponibilidad de ADP controla la respiración. Cuando se realiza trabajo, el ATP se convierte en ADP, lo que permite que ocurra más respiración que, a su vez,

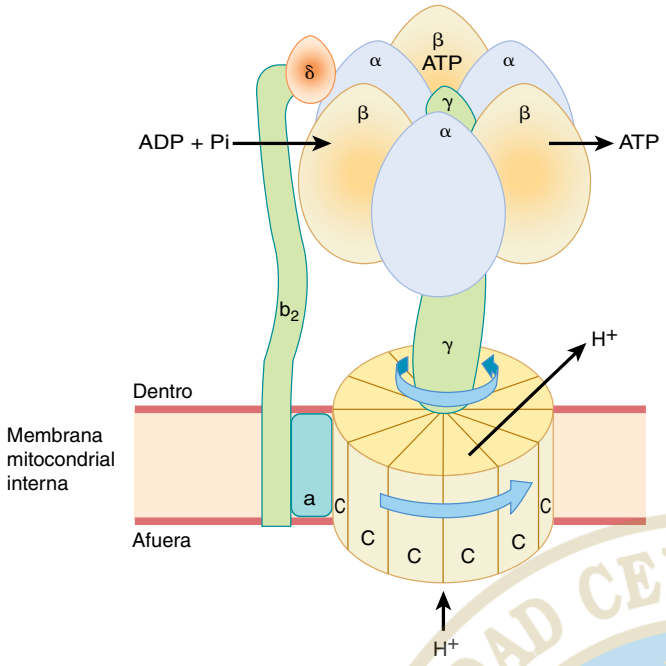


FIGURA 13-8 Mecanismo de producción de ATP por la ATP sintasa. El complejo enzimático consta de un subcomplejo F_0 que es un disco de subunidades de proteína "C". Hay una subunidad γ fija en forma de un "eje doblado". Los protones que pasan por el disco de unidades "C" hacen rotar el disco y la subunidad γ fija. La subunidad γ se adapta dentro del subcomplejo F_1 de tres subunidades α y tres subunidades β, que están fijas a la membrana y no rotan. Las subunidades β captan de manera secuencial ADP y P_i para formar ATP, que se expulsa a medida que la subunidad γ rotatoria saca cada subunidad β a la vez y cambia su conformación. De este modo, se generan tres moléculas de ATP por cada revolución. En aras de la claridad, no todas las subunidades que se han identificado se muestran; por ejemplo, el "eje" también contiene una subunidad.

reabastece las reservas de ATP. En ciertas condiciones, la concentración de fosfato inorgánico también puede afectar el índice de funcionamiento de la cadena respiratoria. A medida que se incrementa la respiración (como durante ejercicio), la célula se aproxima al **estado 3 o el estado 5** cuando la capacidad de la cadena respiratoria queda saturada o la PO_2 disminuye por debajo de la K_m para el hem a_3. También existe la posibilidad de que el transportador de ADP/ATP, que facilita la entrada de ADP citosólico a la mitocondria, y la salida de ATP desde esta última, se conviertan en el limitante de la velocidad.

De este modo, la manera en la cual los procesos oxidativos biológicos permiten que la energía libre resultante de la oxidación de alimento quede disponible para ser captada es por pasos, eficiente y controlada, en lugar de explosiva, ineficiente e incontrolada, como en muchos procesos biológicos. La energía libre restante que no se capta como fosfato de alta energía se libera como **calor**. Esto no necesita considerarse "desperdicio", porque asegura que el sistema respiratorio en conjunto sea lo bastante exergónico como para que se saque de equilibrio, lo que permite el flujo unidireccional continuo y suministro constante de ATP. También contribuye al mantenimiento de la temperatura corporal.

CUADRO 13-1 Estados de control respiratorio

Condiciones que limitan el índice de respiración	
Estado 1	Disponibilidad de ADP y sustrato
Estado 2	Disponibilidad sólo de sustrato
Estado 3	La capacidad de la cadena respiratoria en sí, cuando todos los sustratos y los componentes están presentes en cantidades que originan saturación
Estado 4	Disponibilidad de sólo ADP
Estado 5	Disponibilidad de sólo oxígeno

MUCHOS VENENOS INHIBEN LA CADENA RESPIRATORIA

Gran parte de la información acerca de la cadena respiratoria se ha obtenido por medio del uso de inhibidores y, a la inversa, esto ha proporcionado conocimiento respecto al mecanismo de acción de varios venenos (**figura 13-9**), mismos que se clasifican como inhibidores de la cadena respiratoria, inhibidores de la fosforilación oxidativa y desacopladores de esta última.

Los **barbitúricos**, como el amobarbital, inhiben el transporte de electrones mediante el complejo I al bloquear la transferencia desde Fe-S hacia Q. En dosificación suficiente, son mortales *in vivo*. La **antimicina A** y el **dimercaprol** inhiben la cadena respiratoria en el complejo III. Los venenos clásicos **H_2S**, **monóxido de carbono** y **cianuro** inhiben el complejo IV y, en consecuencia, pueden suspender por completo la respiración. El **malonato** es un inhibidor competitivo del complejo II.

El **atractilósido** inhibe la fosforilación oxidativa mediante la inhibición del transportador de ADP hacia dentro de la mitocondria, y de ATP hacia afuera de ella (**figura 13-10**). El antibiótico **oligomicina** bloquea por completo la oxidación y fosforilación al bloquear el flujo de protones por medio de la ATP sintasa (figura 13-9).

Los **desacopladores** disocian la oxidación en la cadena respiratoria, de la fosforilación (figura 13-7). Estos compuestos son tóxicos *in vivo*, lo que hace que la respiración se torne incontrolada, puesto que el índice ya no queda limitado por la concentración de ADP o P_i. El desacoplador que se ha usado con mayor frecuencia es el **2,4-dinitrofenol**, pero otros compuestos actúan de manera similar. La **termogenina** (o la **proteína desacopladora**) es un desacoplador fisiológico que se encuentra en el tejido adiposo pardo que funciona para generar calor corporal, en particular para el recién nacido y durante la hibernación en animales (capítulo 25).

LA TEORÍA QUIMIOSMÓTICA PUEDE EXPLICAR EL CONTROL RESPIRATORIO Y LA ACCIÓN DE DESACOPLADORES

La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana, una vez establecida como resultado de translocación de protón, inhibe el transporte adicional de equivalentes reductores por la cadena respiratoria, a menos que se descargue por translocación retrógrada de protones a través de la membrana mediante la ATP sintasa. Esto, a su vez, depende de la disponibilidad de ADP y P_i.

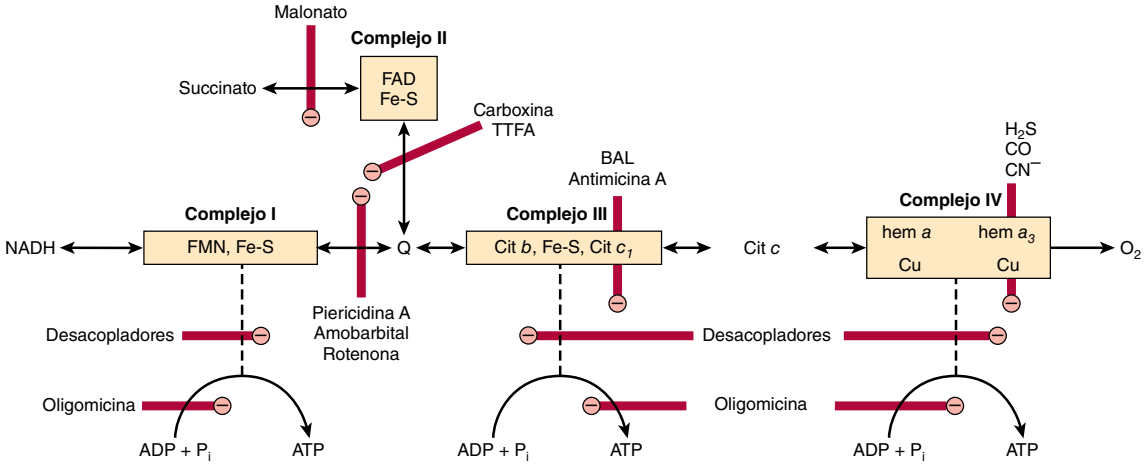


FIGURA 13-9 Sitios de inhibición (⊖) de la cadena respiratoria por fármacos, sustancias químicas y antibióticos específicos. (BAL, dimercaprol; TTFA, un agente quelante del Fe. Las otras abreviaturas significan lo mismo que las de la figura 13-5.)

Los desacopladores (p. ej., dinitrofenol) son anfipáticos (capítulo 21) y aumentan la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna lipoide a protones, lo que reduce el potencial electroquímico y suscita cortocircuito de la ATP sintasa (figura 13-7). De este modo, la oxidación puede proceder sin fosforilación.

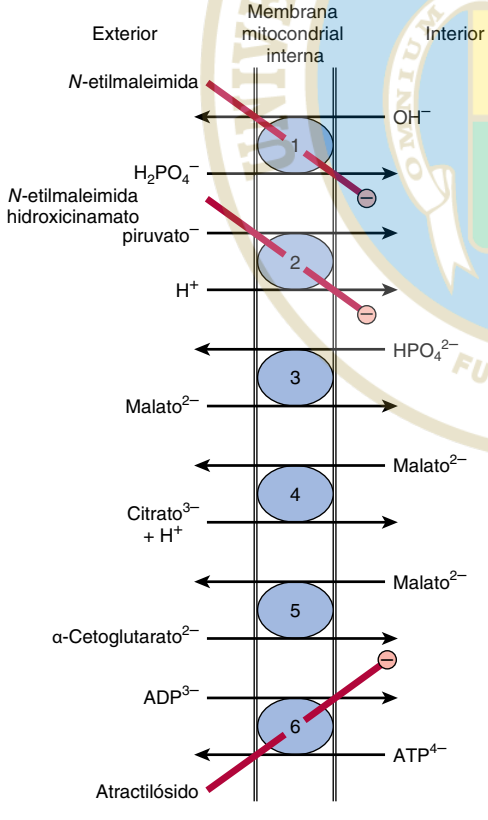


FIGURA 13-10 Sistemas transportadores en la membrana mitocondrial interna. ① transportador de fosfato, ② simporte de piruvato, ③ transportador de dicarboxilato, ④ transportador de tricarboxilato, ⑤ transportador de α-cetoglutarato, ⑥ transportador de nucleótido de adenina. La N-etilmaleimida, el hidroxicinamato y el atractilósido inhiben ⊖ los sistemas indicados. También están presentes (pero no se muestran) sistemas transportadores para glutamato/aspartato (figura 13-13), glutamina, ornitina, aminoácidos neutros y carnitina (figura 22-1).

LA IMPERMEABILIDAD RELATIVA DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERNA REQUIERE TRANSPORTADORES DE INTERCAMBIO

Sistemas de difusión de intercambio que incluyen proteínas transportadoras que abarcan la membrana están presentes en la misma para intercambio de aniones contra iones OH^- y cationes contra iones H^+. Esos sistemas se necesitan para captación y salida de metabolitos ionizados, mientras que preservan los equilibrios eléctrico y osmótico. La membrana mitocondrial interna es libremente permeable a **moléculas pequeñas no cargadas**, como oxígeno, agua, CO_2, NH_3 y **ácidos monocarboxílicos**, como 3-hidroxibutírico, acetoacético y acético —sobre todo en su forma soluble más lípida—. Los **ácidos grasos de cadena larga** se transportan hacia las mitocondrias por medio del sistema de carnitina (figura 22-1), y hay también un acarreador especial para el **piruvato** que comprende un simporte que utiliza el gradiente de H^+ desde afuera hacia dentro de la mitocondria (figura 13-10). Sin embargo, los **aniones dicarboxilato y tricarboxilato** (p. ej., malato, citrato) y los **aminoácidos** requieren sistemas transportadores o acarreadores específicos para facilitar su paso a través de la membrana. El transporte de aniones dicarboxilato y tricarboxilato está estrechamente enlazado con el de fosfato inorgánico, que penetra con facilidad como el ion $H_2PO_4^-$ en intercambio por OH^-. La captación neta de malato por el transportador dicarboxilato necesita fosfato inorgánico para intercambio en la dirección opuesta. La captación neta de citrato, isocitrato o *cis*-aconitato por el transportador tricarboxilato requiere malato a cambio. El transporte de α-cetoglutarato también exige un intercambio con malato. El transportador de nucleótido adenina permite el intercambio de ATP y ADP, no así de AMP. Es vital para permitir que el ATP salga de las mitocondrias hacia los sitios de utilización extramitocondrial y que

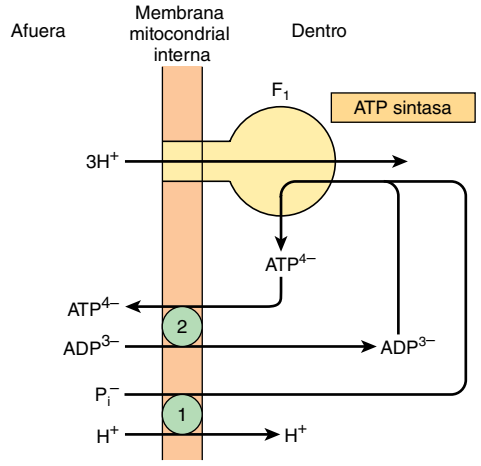


FIGURA 13-11 Combinación de transportador de fosfato ① con el transportador de nucleótido adenina, ② en la síntesis de ATP. El simporte H^+/P_i mostrado es equivalente al antiporte P_i/OH^- mostrado en la figura 13-10.

ocurra el regreso de ADP para la producción de ATP dentro de la mitocondria (**figura 13-11**). Dado que en esta translocación se eliminan de la matriz cuatro cargas negativas por cada tres introducidas, el gradiente electroquímico a través de la membrana (la fuerza motriz de protón) favorece la exportación de ATP. El Na^+ puede intercambiarse por H^+, impulsado por el gradiente de protón. Se cree que la captación activa de Ca^{2+} por mitocondrias ocurre con una transferencia de carga neta de 1 (uniporte de Ca^+), posiblemente por medio de un antiporte Ca^{2+}/H^+. La liberación de calcio a partir de las mitocondrias se facilita por intercambio con Na^+.

Los ionóforos permiten que cationes específicos penetren en las membranas

Los **ionóforos** son moléculas lipofílicas que forman complejos con cationes específicos y facilitan su transporte a través de membranas biológicas, por ejemplo, **valinomicina** (K^+). En realidad, los desacopladores clásicos como el dinitrofenol, son ionóforos de protón.

Una transhidrogenasa translocadora de protón es una fuente de NADPH intramitocondrial

La **transhidrogenasa enlazada con energía**, una proteína de la membrana mitocondrial interna, acopla el paso de protones por el gradiente electroquímico desde afuera hacia dentro de la mitocondria, con la transferencia de H desde NADH intramitocondrial hacia NADPH para enzimas intramitocondriales como glutamato deshidrogenasa e hidroxilasas incluidas en la síntesis de esteroide.

La oxidación de NADH extramitocondrial está mediada por transbordadores de sustrato

El NADH no puede penetrar en la membrana mitocondrial, sino que se produce de manera continua en el citosol por la 3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa, una enzima en la secuencia de glucólisis (figura 17-2). Empero, en condiciones aeróbicas, el NADH extramitocondrial no se acumula, y se cree que la cadena respiratoria lo oxida en las mitocondrias. La transferencia de equivalentes reductores a través de la membrana mitocondrial requiere **pares de sustrato**, enlazados por deshidrogenasas idóneas a cada lado de la membrana mitocondrial. En la **figura 13-12** se muestra el mecanismo de transferencia usando el **transbordador de glicerofosfato**. Puesto que la enzima mitocondrial está enlazada a la cadena respiratoria por medio de una flavoproteína más que por NAD, por cada átomo de oxígeno consumido sólo se forman 1.5 mol de ATP en lugar de 2.5. Si bien este transbordador está presente en algunos tejidos (p. ej., cerebro, músculo blanco), en otros (p. ej., músculo cardíaco) es deficiente. Por ende, se cree que el sistema del **transbordador malato** (**figura 13-13**) es de utilidad más universal. La complejidad de este sistema se debe a la impermeabilidad de la membrana mitocondrial al oxaloacetato, que debe reaccionar con el glutamato para formar aspartato y α-cetoglutarato mediante transaminación antes de transporte a través de la membrana mitocondrial y reconstitución hacia oxaloacetato en el citosol.

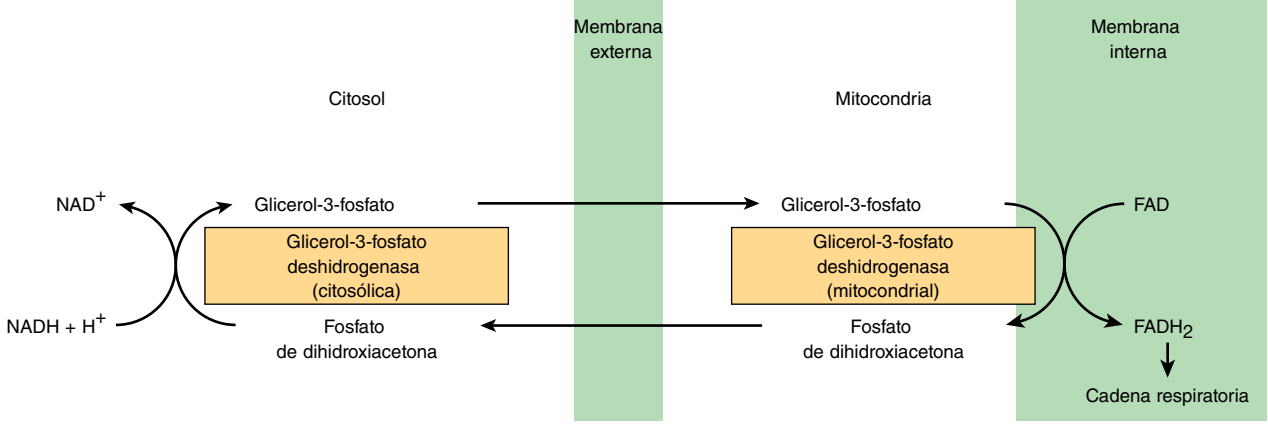


FIGURA 13-12 Transbordador de glicerofosfato para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria.

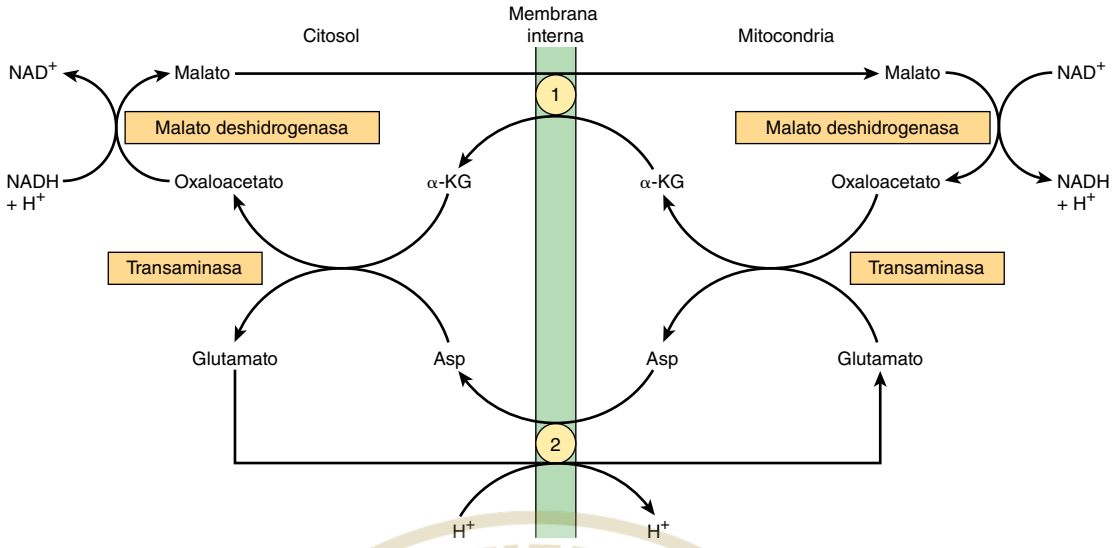


FIGURA 13-13 Transbordador de malato para transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria. ① transportador de alfa-cetoglutarato y ② transportador de glutamato/aspartato (note el simporte de protón con glutamato).

El transporte de ion en las mitocondrias está enlazado con energía

Las mitocondrias mantienen o acumulan cationes como K^+, Na^+, Ca^{2+}, y Mg^{2+} y P_i. Se supone que una bomba de protón primaria impulsa el intercambio de catión.

El transbordador de creatina fosfato facilita el transporte de fosfato de alta energía desde mitocondrias

El **transbordador de creatina fosfato** (**figura 13-14**) incrementa las funciones de la **creatina fosfato** como un amortiguador de energía al actuar como un sistema dinámico para la transferencia de fosfato de alta energía desde mitocondrias en tejidos activos como el corazón y el músculo estriado. Una isoenzima de la **creatina cinasa** (CK_m) se encuentra en el espacio intermembrana mitocondrial, catalizando la transferencia de fosfato de alta energía hacia creatina desde ATP que surge a partir del transportador de nucleótido adenina. A su vez, la creatina fosfato se transporta hacia el citosol por medio de poros de proteína en la membrana mitocondrial externa, y queda disponible para la generación de ATP extramitocondrial.

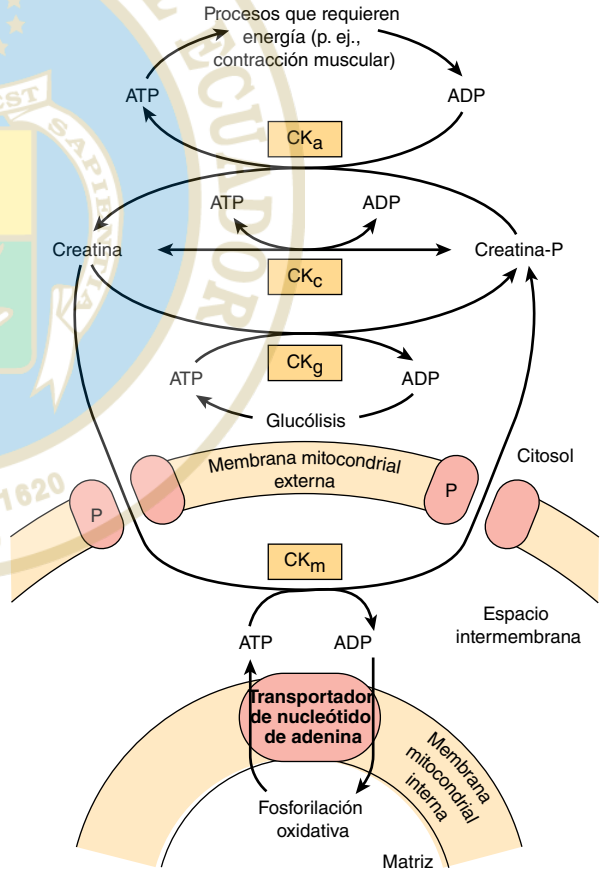


FIGURA 13-14 El transbordador de fosfato de creatina del músculo cardíaco y esquelético. El transbordador permite el transporte rápido de fosfato de alta energía desde la matriz mitocondrial hacia el citosol. (CK_a, creatina cinasa relacionada con requerimientos grandes de ATP, por ejemplo, la contracción muscular; CK_c, creatina cinasa para mantener el equilibrio entre creatina y fosfato de creatina y ATP/ADP; CK_g, creatina cinasa que acopla la glucólisis a la síntesis de fosfato de creatina; CK_m, creatina cinasa mitocondrial que media la producción de fosfato de creatina desde el ATP formado en la fosforilación oxidativa; P, proteína de poro en la membrana mitocondrial externa.)

ASPECTOS CLÍNICOS

La enfermedad conocida como **miopatía mitocondrial mortal infantil con disfunción renal** comprende decremento grave o falta de casi todas las oxidorreductasas de la cadena respiratoria. En el síndrome **MELAS** (del inglés *Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis and Stroke* [mitencefalopatía, acidosis láctica y apoplejía mitocondriales]) es una enfermedad hereditaria debida a deficiencia de NADH-Q oxidorreductasa (complejo I) o citocromo oxidasa (complejo IV). Se produce por una mutación del DNA mitocondrial, y se cree que está involucrada en la **enfermedad de Alzheimer** y la **diabetes mellitus**. Diversos fármacos y venenos actúan por inhibición de la fosforilación oxidativa (vea antes).

RESUMEN

- Casi toda la energía liberada partir de la oxidación de carbohidratos, grasas y proteínas se pone a disposición en las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o e^-), los cuales se encauzan hacia la cadena respiratoria, donde pasan por un gradiente redox de acarreadores hacia su reacción final con oxígeno para formar agua.
- Los acarreadores redox están agrupados en cuatro complejos de cadena respiratoria en la membrana mitocondrial interna. Tres de los cuatro complejos tienen la capacidad para usar la energía liberada en el gradiente redox para bombear protones hacia el exterior de la membrana, lo que crea un potencial electroquímico entre la matriz y el espacio de la membrana interna.
- La ATP sintasa abarca la membrana y actúa como un motor rotatorio usando la energía potencial del gradiente de protón o fuerza motriz de protón para sintetizar ATP a partir de ADP y P_i. De este modo, la oxidación está estrechamente acoplada a la fosforilación para satisfacer las necesidades de energía de las células.
- Dado que la membrana mitocondrial interna es impermeable a protones y otros iones, los transportadores de intercambio especiales abarcan la membrana para permitir que iones como OH^-, ATP^{4-}, ADP^{3-} y metabolitos, pasen sin descargar el gradiente electroquímico a través de la membrana.
- Muchos venenos bien conocidos, como el cianuro, suspenden la respiración mediante inhibición de la cadena respiratoria.

REFERENCIAS

Hinkle PC: P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. Biochem Biophys Acta 2005;1706:1.

Kocherginsky N: Acidic lipids, H(+)-ATPases, and mechanism of oxidative phosphorylation. Physico-chemical ideas 30 years after P. Mitchell's Nobel Prize award. Prog Biophys Mol Biol 2009;99:20.

Mitchell P: Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. Science 1979;206:1148.

Nakamoto RK, Baylis Scanlon JA, Al-Shawi MK: The rotary mechanism of the ATP synthase. Arch Biochem Biophys 2008;476:43.

Smeitink J, van den Heuvel L, DiMauro S: The genetics and pathology of oxidative phosphorylation. Nat Rev Genet 2001;2:342.

Tyler DD: *The Mitochondrion in Health and Disease*. VCH Publishers, 1992.

Wallace DC: Mitochondrial DNA in aging and disease. Sci Am 1997;277:22.

Yoshida M, Muneyuki E, Hisabori T: ATP synthase—a marvelous rotary engine of the cell. Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2:669.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

Preguntas de examen

Sección III —Bioenergética

1. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del cambio de energía libre (ΔG) en una reacción bioquímica es CORRECTA?
   A. Si ΔG es negativo, la reacción procede de manera espontánea con una pérdida de energía libre.
   B. En una reacción exergónica, ΔG es positivo.
   C. El cambio de energía libre estándar cuando los reactantes están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L, y el pH es de 7.0 es representado como ΔG^0.
   D. En una reacción endergónica, ΔG es negativo.
   E. Si el ΔG es de cero, la reacción es en esencia irreversible.

2. Si el ΔG de una reacción es de cero:
   A. La reacción avanza casi a la compleción, y es en esencia irreversible.
   B. La reacción es endergónica.
   C. La reacción es exergónica.
   D. La reacción procede sólo si puede ganarse energía.
   E. El sistema se encuentra en equilibrio, y no ocurre cambio neto.

3. ΔG^0 se define como la carga de energía libre estándar cuando:
   A. Los reactantes están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L.
   B. Los reactantes están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L a pH de 7.0.
   C. Los reactantes están presentes en concentraciones de 1.0 mmol/L a pH de 7.0.
   D. Los reactantes están presentes en concentraciones de 1.0 µmol/L.
   E. Los reactantes están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L a pH de 7.4.

4. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del ATP es CORRECTA?
   A. Contiene tres enlaces fosfato de alta energía.
   B. Se necesita en el cuerpo para impulsar reacciones exergónicas.
   C. Se usa como un almacén de energía en el organismo.
   D. Funciona en el organismo como un complejo con Mg^{2+}.
   E. Es sintetizado por la ATP sintasa en presencia de desacopladores como UCP-1 (termogenina).

5. ¿Cuál de las enzimas que siguen usa oxígeno molecular como un aceptor de hidrógeno?
   A. Citocromo *c* oxidasa.
   B. Isocitrato deshidrogenasa.
   C. Homogentisato dioxigenasa.
   D. Catalasa.
   E. Superóxido dismutasa.

6. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de los citocromos es INCORRECTA?
   A. Son hemoproteínas que participan en reacciones de oxidación y reducción.
   B. Contienen hierro que oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante las reacciones en las cuales participan.
   C. Actúan como transportadores de electrón en la cadena respiratoria en las mitocondrias.
   D. Tienen un papel importante en la hidroxilación de esteroides en el retículo endoplasmático.
   E. Son enzimas deshidrogenasa.

7. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de los citocromos P450 es INCORRECTA?
   A. Son capaces de aceptar electrones provenientes de NADH o de NADPH.
   B. Sólo se encuentran en el retículo endoplasmático.
   C. Son enzimas monooxigenasa.
   D. Desempeñan un papel importante en la destoxificación de fármacos en el hígado.
   E. En algunas reacciones funcionan conjuntamente con el citocromo b_5.

8. A medida que una molécula de NADH es oxidada por medio de la cadena respiratoria:
   A. Se producen 1.5 moléculas de ATP en total.
   B. Se produce una molécula de ATP a medida que los electrones pasan por el complejo IV.
   C. Se produce una molécula de ATP a medida que los electrones pasan por el complejo II.
   D. Se produce una molécula de ATP a medida que los electrones pasan por el complejo III.
   E. Se produce 0.5 de una molécula de ATP a medida que los electrones pasan por el complejo I.

9. El número de moléculas de ATP producidas por cada molécula de $FADH_2$ oxidada mediante la cadena respiratoria es:
   A. 1
   B. 2.5
   C. 1.5
   D. 2
   E. 0.5

10. Varios compuestos inhiben la fosforilación oxidativa—la síntesis de ATP a partir de ADP y de fosfato inorgánico enlazada a oxidación de sustratos en mitocondrias. ¿Cuál de las que siguen describe la acción de la oligomicina?
    A. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna.
    B. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial externa.
    C. Inhibe directamente la cadena de transporte de electrones al unirse a uno de los transportadores de electrones en la membrana interna mitocondrial.
    D. Inhibe el transporte de ADP hacia la matriz mitocondrial, y el de ATP hacia afuera de la misma.
    E. Inhibe el transporte de protones de regreso hacia la matriz mitocondrial por medio de la ATP sintasa.

11. Varios compuestos inhiben la fosforilación oxidativa—la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico enlazada a oxidación de sustratos en las mitocondrias. ¿Cuál de las que siguen describe la acción de un desacoplador?
    A. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna.
    B. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial externa.
    C. Inhibe la cadena de transporte de electrones directamente al unirse a uno de los transportadores de electrones en la membrana mitocondrial interna.
    D. Inhibe el transporte de ADP hacia la matriz mitocondrial, y de ATP hacia afuera de la misma.

E. Inhibe el transporte de protones de regreso hacia la matriz mitocondrial a través del tallo de la partícula primaria.

12. Una estudiante toma, sin preguntar qué contienen, algunas tabletas que le ofrecen en una discoteca. Poco después empieza a hiperventilar, y presenta gran aumento de la temperatura. ¿Cuál es la acción más probable de las tabletas que tomó?
    A. Un inhibidor de la síntesis mitocondrial de ATP.
    B. Un inhibidor del transporte de electrones mitocondrial.
    C. Un inhibidor del transporte de ADP hacia las mitocondrias para ser fosforilado.
    D. Un inhibidor del transporte de ATP hacia afuera de las mitocondrias, hacia el citosol.
    E. Un desacoplador del transporte de electrones y la fosforilación oxidativa mitocondriales.

13. En circunstancias normales, el flujo de electrones por la cadena respiratoria, y la producción de ATP, se encuentran estrechamente acoplados. ¿Los procesos son desacoplados por cuál de los que siguen?
    A. Cianuro.
    B. Oligomicina.
    C. Termogenina.
    D. Monóxido de carbono.
    E. Sulfuro de hidrógeno.

14. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de la ATP sintasa es INCORRECTA?
    A. Está situada en la membrana mitocondrial interna.
    B. Requiere una fuerza motriz de protón para formar ATP en presencia de ADP y Pi.
    C. El ATP se produce cuando parte de la molécula rota.
    D. Una molécula de ATP se forma por cada revolución completa de la molécula.
    E. El complejo F_1 está fijo a la membrana, y no rota.

15. La teoría quimiosmótica de Peter Mitchell propone un mecanismo para el acoplamiento estrecho del transporte de electrones por medio de la cadena respiratoria al proceso de la fosforilación oxidativa. ¿Cuál de las opciones que siguen NO es predicha por la teoría?
    A. Un gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna generado por el transporte de electrones impulsa la síntesis de ATP.
    B. La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna causada por el transporte de electrones es positiva en el lado de la matriz.
    C. Los protones son bombeados a través de la membrana mitocondrial interna a medida que los electrones pasan por la cadena respiratoria.
    D. Un aumento de la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna a protones desacopla los procesos de transporte de electrones y fosforilación oxidativa.
    E. La síntesis de ATP ocurre cuando la diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana es descargada por translocación de protones de regreso a través de la membrana mitocondrial interna por medio de una enzima ATP sintasa.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN IV

Metabolismo de carbohidratos

CAPÍTULO 14

Perspectiva general del metabolismo y el suministro de combustibles metabólicos

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar qué significan las vías metabólicas anabólica, catabólica y anfibólica.
- Describir a grandes rasgos el metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos a nivel de tejidos y órganos, y a nivel subcelular, así como la interconversión de combustibles metabólicos.
- Describir las formas en las cuales se regula el flujo de metabolitos a través de las vías metabólicas.
- Describir cómo es proporcionado el aporte de combustibles metabólicos en los estados posprandial y de ayuno; la formación de reservas de combustibles metabólicos en el estado posprandial, y su movilización en el ayuno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

"Metabolismo" es el término que se usa para describir la interconversión de compuestos químicos en el cuerpo, las vías que siguen moléculas individuales, sus interrelaciones, y los mecanismos que regulan el flujo de metabolitos a través de las vías. Las vías metabólicas se clasifican en tres categorías: 1) **vías anabólicas**, que son las implicadas en la síntesis de compuestos de mayor tamaño y más complejos a partir de precursores más pequeños, por ejemplo, la síntesis de proteína a partir de aminoácidos, y la síntesis de las reservas de triacilgliceroles y glucógeno. Las vías anabólicas son endotérmicas. 2) **Vías catabólicas**, que están involucradas en la degradación de moléculas de mayor tamaño; por lo general implican reacciones oxidativas; son exotérmicas; producen equivalentes reductores y, principalmente por medio de la cadena respiratoria (capítulo 13), producen ATP. 3) **Vías anfibólicas**, que se presentan en las "encrucijadas" del metabolismo, y actúan como enlaces entre las vías anabólicas y catabólicas, por ejemplo, el ciclo del ácido cítrico (capítulo 16).

El conocimiento del metabolismo normal es esencial para entender las anormalidades que fundamentan la enfermedad. El metabolismo normal incluye adaptación a periodos de ayuno, inanición, ejercicio, así como embarazo y lactancia. El metabolismo anormal puede producirse por deficiencia nutricional, deficiencia enzimática, secreción anormal de hormonas, o las acciones de fármacos y toxinas.

Un ser humano adulto de 70 kg requiere alrededor de 8 a 12 MJ (1 920 a 2 900 kcal) provenientes de combustibles metabólicos cada día, según su actividad física. Los animales de mayor tamaño necesitan menos y los animales de menor tamaño más energía por kilogramo de peso corporal, y los niños y animales en crecimiento tienen un requerimiento proporcionalmente mayor debido al costo de energía por el crecimiento. Para seres humanos este requerimiento de energía se satisface a partir de carbohidratos (40 a 60%), lípidos (principalmente triacilgliceroles, 30 a 40%) y proteína (10 a 15%), así como el alcohol. La mezcla de carbohidratos, lípidos y proteínas que se está oxidando varía, dependiendo si el sujeto se encuentra en el estado alimentado o de ayuno, y de la duración y la intensidad del trabajo físico.

Hay un requerimiento constante de combustibles metabólicos durante todo el día, dado que la actividad física promedio sólo aumenta la tasa metabólica alrededor de 40 a 50% sobre la tasa metabólica basal, o en reposo. Sin embargo, la mayoría de las personas consume en dos o tres comidas su ingesta diaria de combustibles metabólicos, de modo que hay una necesidad de formar reservas de carbohidratos (glucógeno en el hígado y en

los músculos), lípidos (triacilgliceroles en el tejido adiposo) y almacenamiento lábil de proteínas durante el periodo que sigue a una comida, para utilizarse durante el tiempo interpuesto en el que no hay ingesta de alimento.

Si la ingesta de combustibles metabólicos es consistentemente mayor que el gasto de energía, el excedente se almacena, en su mayor parte como triacilgliceroles en el tejido adiposo, lo que conduce al desarrollo de **obesidad** y a los peligros para la salud que conlleva. En contraste, si la ingesta de combustibles metabólicos es consistentemente menor que el gasto de energía, las reservas de grasas y carbohidratos son insignificantes, y se utilizan para producir energía, aminoácidos que surgen a partir del recambio de proteína, más que utilizarlos para reemplazar la síntesis de proteínas, lo que conduce a **emaciación, desgaste** y, por último, a la muerte (ver capítulo 43).

En el estado posprandial, después de una comida, hay un amplio aporte de carbohidratos, y el combustible metabólico para casi todos los tejidos es la glucosa. En el estado de ayuno, es necesario reservar la glucosa para uso por el sistema nervioso central (que depende en su mayor parte de glucosa) y los eritrocitos (que dependen por completo de la glucosa). Por tanto, los tejidos que pueden usar otros combustibles distintos a la glucosa, lo hacen; el músculo y el hígado oxidan ácidos grasos, y el hígado sintetiza cuerpos cetónicos a partir de ácidos grasos para exportarlos hacia los músculos y otros tejidos. Conforme se agotan las reservas de glucógeno, se usan para **gluconeogénesis** aminoácidos que surgen a partir del recambio de proteína (capítulo 19).

La formación y utilización de reservas de triacilgliceroles y glucógeno, y el grado en el cual los tejidos captan glucosa y la oxidan, están en su mayor parte controlados por las hormonas **insulina** y **glucagón.** En la **diabetes mellitus** están alteradas ya sea la síntesis o secreción de insulina (diabetes tipo 1, a veces llamada diabetes de inicio juvenil o diabetes insulinodependiente) o bien sensibilidad alterada de los tejidos a la acción de la insulina (diabetes tipo 2, a veces llamada diabetes de inicio en el adulto o no insulinodependiente), que lleva a alteración metabólica grave. Las demandas de la lactancia intensa en el ganado vacuno pueden llevar a cetosis, al igual que las demandas que plantea el embarazo gemelar en ovejas.

VÍAS QUE PROCESAN LOS PRINCIPALES PRODUCTOS DE LA DIGESTIÓN

La naturaleza de la dieta establece el patrón básico de metabolismo. Es necesario procesar los productos de la digestión de carbohidratos, lípidos y proteínas de la dieta; éstos son particularmente glucosa, ácidos grasos y glicerol, y aminoácidos, respectivamente. En rumiantes (y, un tanto menos, en otros herbívoros), los microorganismos simbióticos fermentan la celulosa de la dieta hacia ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico, butírico), y en estos animales el metabolismo está adaptado para emplear estos ácidos grasos como los principales sustratos. Todos los productos de la digestión se metabolizan hacia un **producto común**, **la acetil-CoA**, que luego se oxida mediante el **ciclo del ácido cítrico** (capítulo 16) **(figura 14-1).**

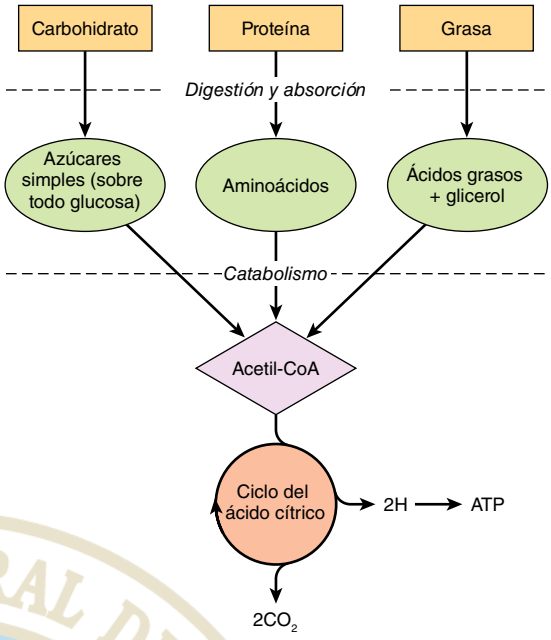


FIGURA 14-1 Esbozo de las vías para el catabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas de la dieta. Todas las vías llevan a la producción de acetil-CoA, que se oxida en el ciclo del ácido cítrico y al final produce ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa.

El metabolismo de los carbohidratos se centra en el suministro y destino de la glucosa

La glucosa es el principal combustible de casi todos los tejidos (**figura 14-2**). Se metaboliza hacia piruvato por la vía de la **glucólisis** (capítulo 17). Los tejidos aeróbicos metabolizan el piruvato a **acetil-CoA**, que puede entrar al ciclo del ácido cítrico para su oxidación completa hacia CO_2 y H_2O, enlazada a la formación de ATP en el proceso de **fosforilación oxidativa** (figura 13-2). La glucólisis también puede ocurrir de manera anaeróbica (en ausencia de oxígeno) cuando el producto terminal es el lactato.

La glucosa y sus metabolitos también participan en otros procesos, por ejemplo, la síntesis del polímero de almacenamiento **glucógeno** en el músculo estriado y el hígado (capítulo 18) y la **vía de la pentosa fosfato**, una ruta alterna que parte de la vía de la glucólisis (capítulo 20). Es una fuente de equivalentes reductores (NADPH) para la síntesis de ácidos grasos (capítulo 23), y la fuente de **ribosa** para la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos (capítulo 33). Los intermediarios triosa-fosfato en la glucólisis dan lugar a la **porción glicerol** de los triacilgliceroles. El piruvato y los intermediarios del ciclo del ácido cítrico proporcionan los esqueletos carbonados para la síntesis de **aminoácidos** no esenciales (capítulo 27), y la acetil-CoA es el precursor de **ácidos grasos** (capítulo 23) y **colesterol** (capítulo 26) y, por ende, de todas las hormonas esteroideas sintetizadas en el cuerpo. La **gluconeogénesis** es el proceso de sintetizar glucosa a partir de precursores no carbohidratos, tales como, lactato, aminoácidos y glicerol (capítulo 19).

El metabolismo de los lípidos se relaciona principalmente con ácidos grasos y colesterol

La fuente de ácidos grasos de cadena larga son ya sea los lípidos de la dieta o la síntesis *de novo* a partir de acetil-CoA derivada de

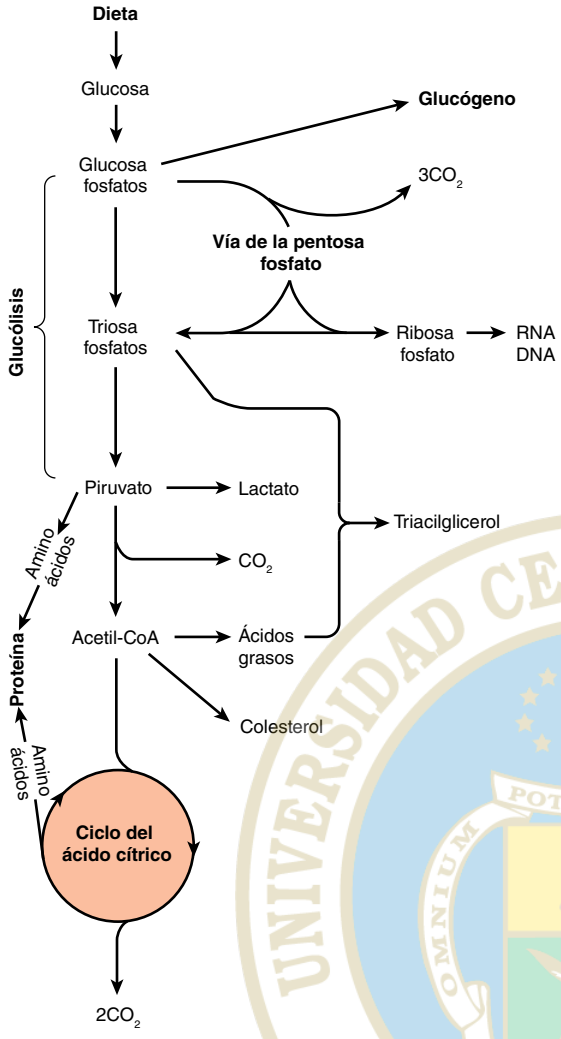


FIGURA 14-2 Perspectiva general del metabolismo de carbohidratos, que muestra las principales vías y productos terminales. No se muestra la gluconeogénesis.

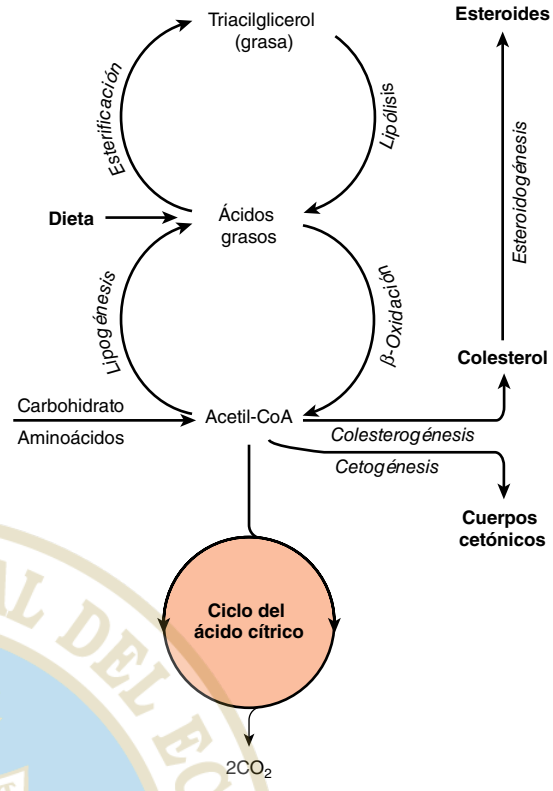


FIGURA 14-3 Perspectiva general del metabolismo de ácidos grasos, que muestra las principales vías y productos terminales. Los cuerpos cetónicos son acetoacetato, 3-hidroxibutirato, y acetona (que se forma por medio de mecanismos no enzimáticos mediante descarboxilación de acetoacetato).

carbohidratos o aminoácidos. Los ácidos grasos se pueden oxidar a **acetil-CoA (β-oxidación)** o esterificarse con glicerol, lo que forma **triacilgliceroles** (grasas) como la principal reserva de combustible del cuerpo.

La acetil-CoA formada por la β-oxidación de los ácidos grasos, puede tener tres destinos (**figura 14-3**).

1. Al igual que con la acetil-CoA que surge a partir de la glucólisis, se **oxida** hacia CO_2 + H_2O por medio del ciclo del ácido cítrico.
2. Es el precursor para la síntesis de **colesterol** y otros **esteroides.**
3. En el hígado, se usa para formar **cuerpos cetónicos**, acetoacetato y 3-hidroxibutirato (ver capítulo 22), que son combustibles importantes en el ayuno prolongado y la inanición.

Gran parte del metabolismo de aminoácidos involucra a la transaminación

Los aminoácidos son necesarios para efectuar la síntesis de proteína (**figura 14-4**). Algunos deben suministrarse en la dieta (los **aminoácidos esenciales** o **indispensables**), porque no se pueden sintetizar en el organismo. El resto son **aminoácidos no esenciales** o **dispensables**, que provienen de la dieta, pero también pueden formarse a partir de intermediarios metabólicos mediante **transaminación** usando el grupo amino de otros aminoácidos (capítulo 27). Después de **desaminación**, el nitrógeno amino se excreta como **urea**, y los esqueletos carbonados que permanecen después de la transaminación pueden: 1) oxidarse hasta CO_2 por medio del ciclo del ácido cítrico, 2) usarse para sintetizar glucosa (gluconeogénesis), o 3) formar cuerpos cetónicos o acetil CoA, que pueden ser oxidados o empleados para la síntesis de ácidos grasos (capítulo 28).

Varios aminoácidos también son los precursores de otros compuestos, por ejemplo, purinas, pirimidinas, hormonas como epinefrina y tiroxina, y neurotransmisores.

LAS VÍAS METABÓLICAS PUEDEN ESTUDIARSE A DIFERENTES NIVELES DE ORGANIZACIÓN

Además de estudios en el organismo entero, la localización e integración de las vías metabólicas se revela mediante estudios a dos niveles de organización. En el **nivel de tejido y órgano**, se puede medir la naturaleza de los sustratos que entran a ellos, y de los metabolitos que salen de los mismos. A nivel **subcelular** cada organelo (p. ej., la mitocondria) o compartimiento (p. ej., el citosol) celular tiene funciones específicas que forman parte de un modelo subcelular de vías metabólicas.

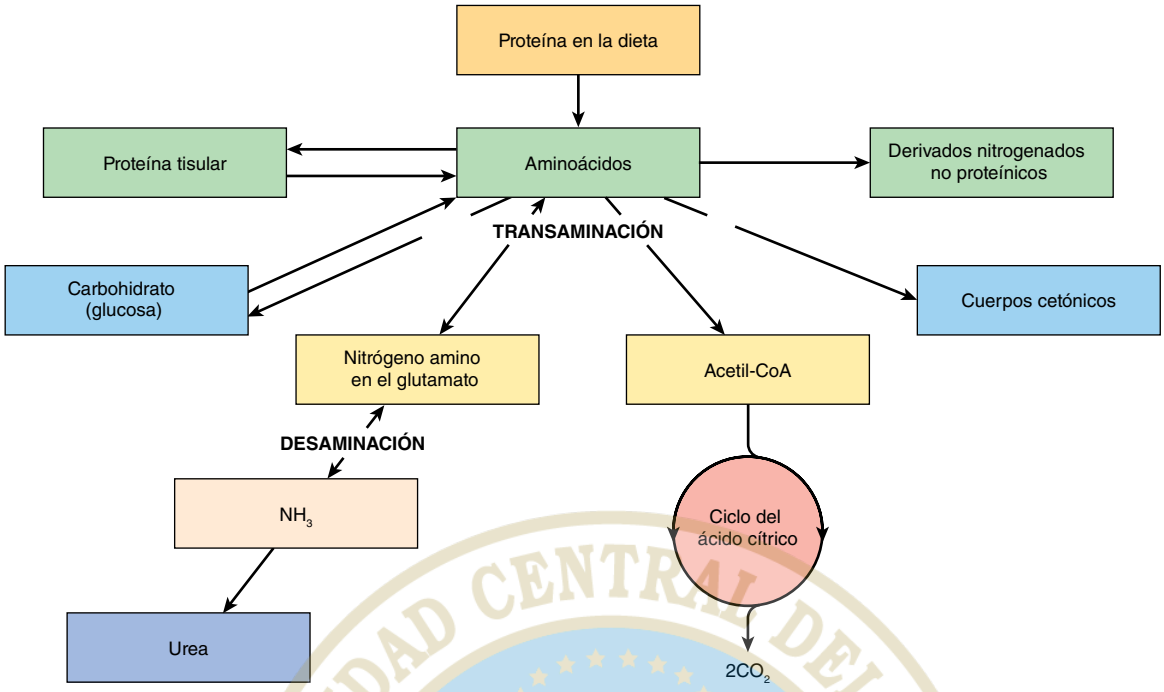


FIGURA 14-4 **Perspectiva general del metabolismo de aminoácidos, que muestra las principales vías y productos terminales.**

En el ámbito de tejido y órgano, la circulación de la sangre integra el metabolismo

Los **aminoácidos** generados por la digestión de proteína de la dieta y la **glucosa** producida por la digestión de carbohidratos, se absorben por medio de la vena porta hepática. El hígado tiene la función de regular la concentración sanguínea de estos metabolitos hidrosolubles (**figura 14-5**). En el caso de la glucosa, esto se logra al captar la que excede los requerimientos inmediatos, y usarla para sintetizar glucógeno (**glucogénesis**, capítulo 18) o ácidos grasos (**lipogénesis**, capítulo 23). Entre las comidas, el hígado actúa para mantener las concentraciones sanguíneas de glucosa al degradar el glucógeno (**glucogenolisis**, capítulo 18)

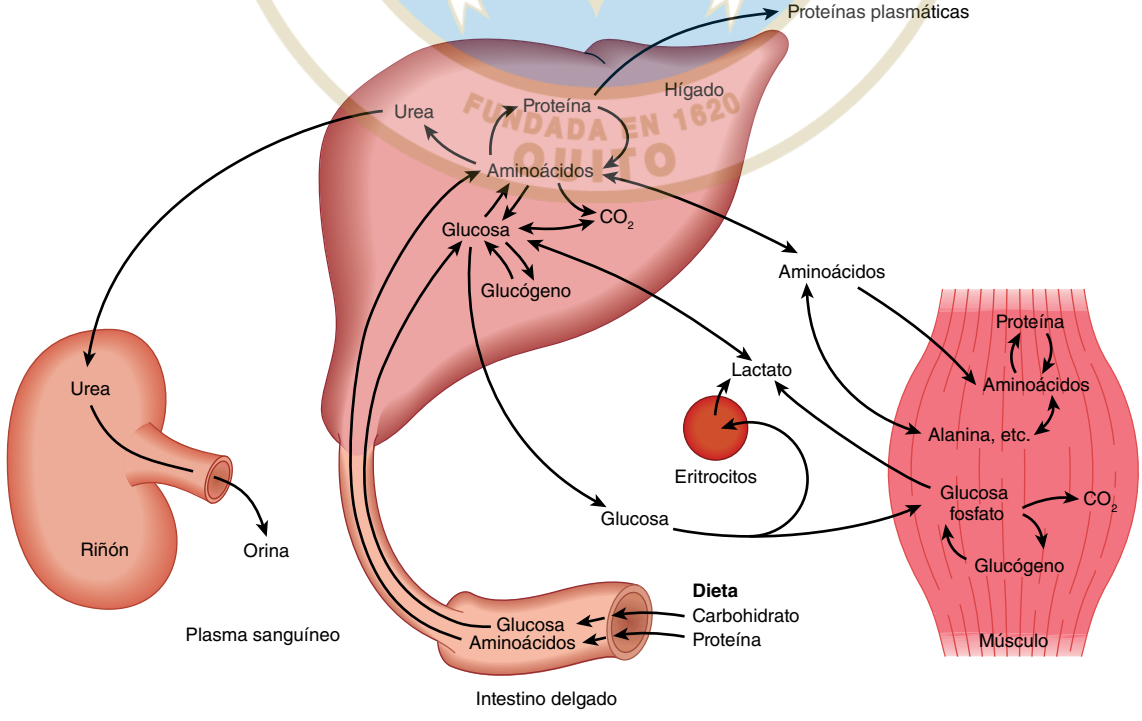


FIGURA 14-5 **Transporte y destino de los sustratos y metabolitos carbohidratos y aminoácidos importantes.** Note que hay poca glucosa libre en el músculo, porque es fosforilada con rapidez tras su entrada.

y, junto con los riñones, al convertir metabolitos no carbohidratos, como lactato, glicerol y aminoácidos, en glucosa (**gluconeogénesis**, capítulo 19). El mantenimiento de una concentración adecuada de glucosa en la sangre es esencial para los tejidos en los cuales es el principal combustible (el cerebro) o el único combustible (los eritrocitos). El hígado también **sintetiza la mayor parte de las proteínas plasmáticas** (p. ej., albúmina) y **desamina aminoácidos** que exceden los requerimientos, sintetizando urea, que es transportada hacia los riñones y excretada (capítulo 28).

El **músculo esquelético** utiliza glucosa como combustible, tanto aeróbicamente formando CO_2, como anaeróbicamente, formando lactato. Almacena glucógeno como un combustible para uso en la contracción muscular, y sintetiza proteína muscular a partir de aminoácidos plasmáticos. El músculo conforma alrededor de 50% de la masa corporal y, por consiguiente, representa una considerable reserva de proteína a la cual puede recurrirse para aportar aminoácidos para la gluconeogénesis en la inanición (capítulo 19).

Los **lípidos** en la dieta (**figura 14-6**) son principalmente triacilgliceroles, y se hidrolizan hacia monoacilgliceroles y ácidos grasos en el intestino, y después se vuelven a esterificar en la mucosa intestinal. Ahí son empacados con proteína y secretados hacia el sistema linfático y, desde allí, hacia el torrente sanguíneo como **quilomicrones,** las **lipoproteínas** plasmáticas de mayor tamaño (capítulo 25). Los quilomicrones también contienen otros nutrientes liposolubles, lo que incluye las vitaminas A, D, E y K (capítulo 44). A diferencia de la glucosa y los aminoácidos absorbidos del intestino delgado, el hígado no capta de manera directa los triacilgliceroles de los quilomicrones. Primero se metabolizan en los tejidos que tienen **lipoproteína lipasa**, que hidroliza los triacilgliceroles, liberando ácidos grasos que se incorporan en los lípidos de los tejidos, o se oxidan como combustible. El hígado elimina los remanentes de quilomicrones. La otra fuente principal de ácidos grasos de cadena larga es la síntesis **(lipogénesis)** a partir de carbohidratos, en el tejido adiposo y en el hígado (capítulo 23).

Los triacilgliceroles del tejido adiposo son la principal reserva de combustible del cuerpo. Se hidrolizan **(lipólisis),** y se liberan glicerol y ácidos grasos libres hacia la circulación. El glicerol es un sustrato para la gluconeogénesis (ver capítulo 19). Los ácidos grasos son transportados unidos a la albúmina sérica; son captados por la mayor parte de los tejidos (aunque no por el cerebro o los eritrocitos), y se esterifican a triacilgliceroles para almacenamiento o se oxidan como un combustible. En el hígado, los triacilgliceroles recién sintetizados, así como los que provienen de remanentes de quilomicrón (figura 25-3) son secretados hacia la circulación en las **lipoproteínas de muy baja densidad** (**VLDL**, del inglés *very low density lipoprotein*); dichos triacilgliceroles tienen un destino similar al de los quilomicrones. La oxidación parcial de ácidos grasos en el hígado conduce a la producción de **cuerpos cetónicos** (**cetogénesis**, capítulo 22) algunos de los cuales se exportan hacia tejidos extrahepáticos, donde actúan como un combustible en el ayuno y la inanición prolongados.

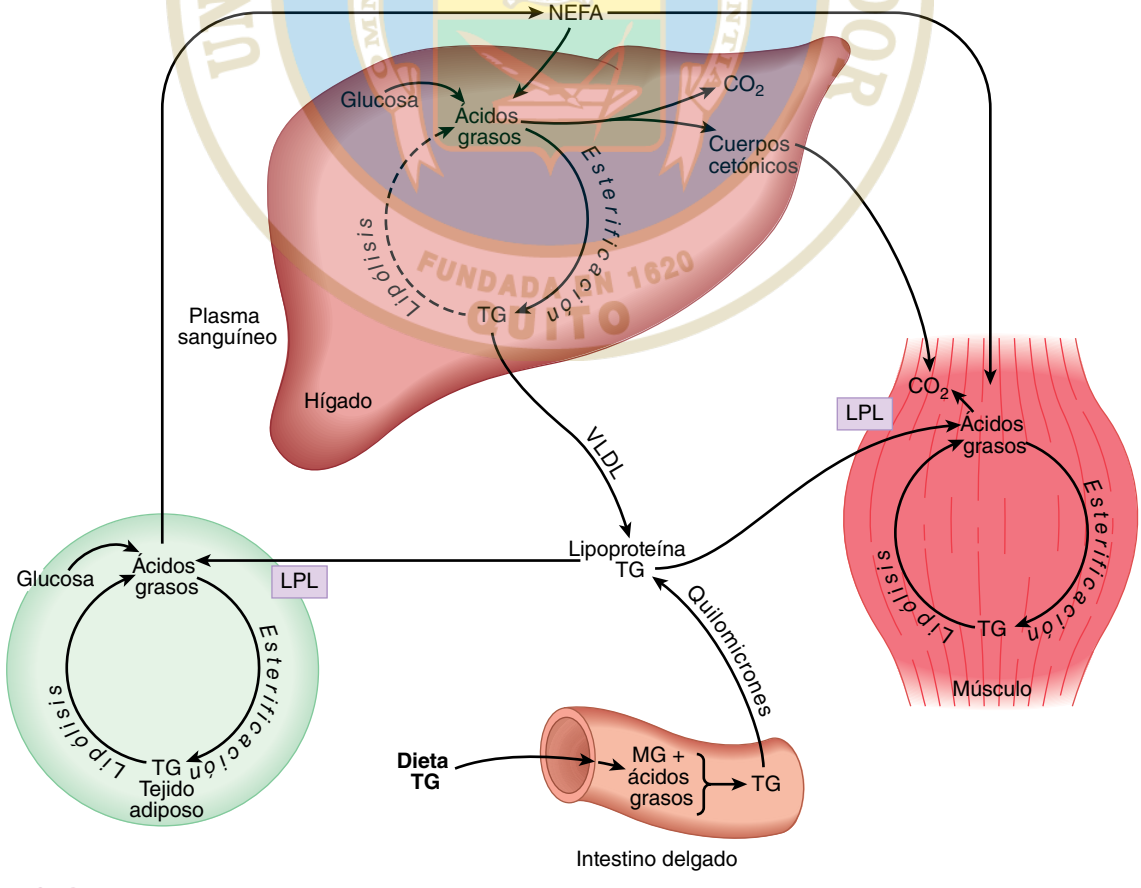


FIGURA 14-6 Transporte y destino de sustratos y metabolitos lípidos importantes. (LPL, lipoproteína lipasa; MG, monoacilglicerol; NEFA, ácidos grasos no esterificados; TG, triacilglicerol; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.)

A nivel subcelular, la glucólisis ocurre en el citosol, y el ciclo del ácido cítrico en las mitocondrias

La compartamentalización de vías en compartimientos subcelulares u organelos separados permite la integración y regulación del metabolismo. No todas las vías tienen igual importancia en todas las células. En la **figura 14-7** se describe la compartamentalización subcelular de vías metabólicas en una célula del parénquima hepático.

El papel central de la **mitocondria** queda de manifiesto de inmediato, porque actúa como el foco del metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos. Contiene las enzimas del ciclo del ácido cítrico (capítulo 16), la β-oxidación de ácidos grasos y la cetogénesis (capítulo 22), así como la cadena respiratoria y la ATP sintasa (capítulo 13).

La glucólisis (capítulo 17), la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20) y la síntesis de ácidos grasos (capítulo 23) ocurren en el citosol. En la gluconeogénesis (capítulo 19), los sustratos como lactato y piruvato, que se forman en el citosol, entran a la mitocondria y dan **oxalacetato** como un precursor para la síntesis de glucosa en el citosol.

Las membranas del **retículo endoplásmico** contienen el sistema enzimático para la **síntesis de triacilgliceroles** (capítulo 24), y los **ribosomas** son responsables de la **síntesis de proteínas** (capítulo 37).

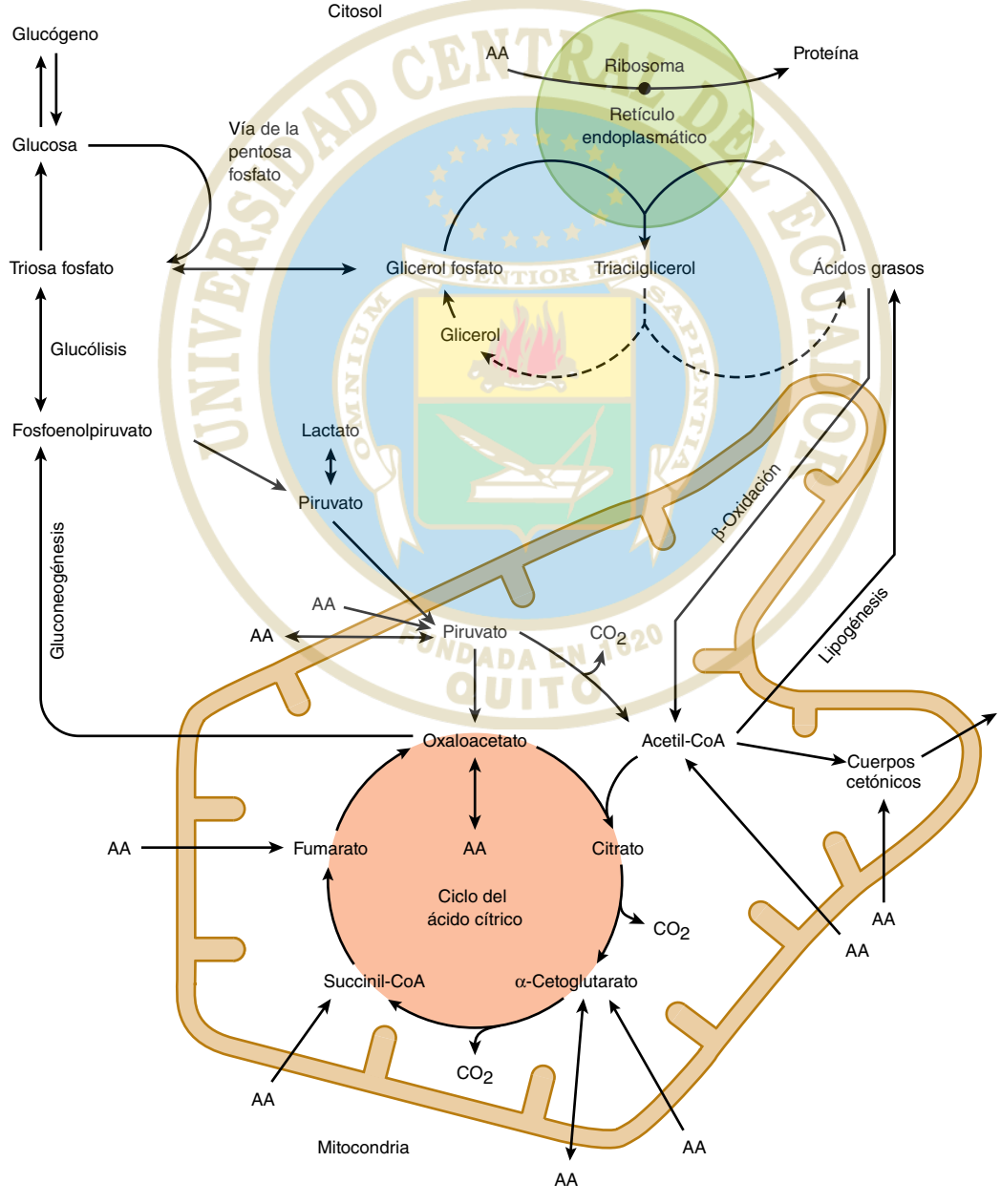


FIGURA 14-7 Ubicación intracelular y perspectiva general de vías metabólicas importantes en una célula parenquimatosa del hígado. (AA →, metabolismo de uno o más aminoácidos esenciales; AA ↔, metabolismo de uno o más aminoácidos no esenciales).

EL FLUJO DE METABOLITOS A TRAVÉS DE LAS VÍAS METABÓLICAS DEBE REGULARSE DE UN MODO CONCERTADO

La regulación del flujo general a través de una vía es importante para asegurar un aporte apropiado de los productos de esa vía. Se logra por medio del control de una o más reacciones clave en la vía, catalizadas por **enzimas reguladoras**. Los factores físico-químicos que controlan la velocidad de una reacción catalizada por enzimas, como las concentraciones de sustrato, tienen importancia primaria en el control de la velocidad global de una vía metabólica (capítulo 9).

Las reacciones de no equilibrio son puntos potenciales de control

En una reacción en equilibrio, las reacciones directa e inversa ocurren a velocidades iguales y, por tanto, no hay flujo neto en una u otra dirección.

$$A \leftrightarrow C \leftrightarrow D$$

In vivo, en condiciones de "estado estable", hay flujo neto de izquierda a derecha porque hay aporte de A (sustrato) y eliminación de D (producto), continuos. En la práctica, normalmente hay una o más reacciones **de no equilibrio** en una vía metabólica, donde los reactivos están presentes en concentraciones que están lejos del equilibrio. Al intentar alcanzar el equilibrio, se pierden grandes cantidades de energía libre, lo que hace que este tipo de reacción sea en esencia irreversible. Ese tipo de vía tiene tanto flujo como dirección. Las enzimas que catalizan reacciones de no equilibrio por lo general están presentes en bajas concentraciones, y están sujetas a diversos mecanismos reguladores. Sin embargo, casi ninguna reacción en las vías metabólicas puede clasificarse como de equilibrio o de no equilibrio, sino que cae en algún lugar entre ambos extremos.

La reacción generadora de flujo es la primera reacción en una vía que se satura con el sustrato

La reacción generadora de flujo puede identificarse como una reacción de no equilibrio en la cual la K_m de la enzima es considerablemente menor que la concentración normal de sustrato. La primera reacción en la glucólisis, catalizada por hexocinasa (figura 17-2), es un paso generador de flujo de ese tipo porque su K_m para la glucosa de 0.05 mmol/L está bastante por abajo de las cifras normales de glucosa en la sangre de 3 a 5 mmol/L. Reacciones posteriores controlan después la velocidad de flujo a través de la vía.

LOS MECANISMOS ALOSTÉRICOS Y HORMONALES SON IMPORTANTES EN EL CONTROL METABÓLICO DE LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMAS

En la vía metabólica que se muestra en la **figura 14-8**,

$$A \leftrightarrow B \rightarrow C \leftrightarrow D$$

las reacciones $A \leftrightarrow B$ y $C \leftrightarrow D$ son reacciones de equilibrio, y la reacción $B \rightarrow C$ es una reacción de no equilibrio. El flujo a través de esta vía puede ser regulado por la disponibilidad de sustrato A. Esto depende de su aporte desde la sangre que, a su vez, depende de la ingesta de alimento, o de reacciones clave que liberan sustratos desde reservas tisulares hacia el torrente sanguíneo, por ejemplo, glucógeno fosforilasa en el hígado (figura 18-1) y lipasa sensible a hormonas en el tejido adiposo (figura 25-8). También depende del transporte del sustrato A hacia la célula. Los tejidos muscular y adiposo sólo captan glucosa a partir del torrente sanguíneo en respuesta a la hormona insulina.

El flujo también está determinado por la eliminación del producto terminal D y la disponibilidad de cosustratos o cofactores representados por X y Y. Las enzimas que catalizan reacciones de no equilibrio, suelen ser proteínas alostéricas sujetas a las acciones rápidas de control por "retroacción" o "anteroacción" mediante **modificadores alostéricos**, en respuesta inmediata a las necesidades de las células (capítulo 9). A menudo, el producto terminal de una vía biosintética inhibe la enzima que cataliza la primera reacción en la vía. Otros mecanismos de control dependen de la acción de **hormonas** que muestran respuesta a las necesidades del cuerpo en conjunto; pueden actuar con rapidez al alterar la actividad de moléculas de enzima existentes, o con lentitud al alterar la velocidad de síntesis de la enzima (capítulo 42).

MUCHOS COMBUSTIBLES METABÓLICOS SON INTERCONVERTIBLES

Los carbohidratos que exceden los requerimientos para un metabolismo productor de energía inmediata y la formación de reservas de glucógeno en los músculos y el hígado, pueden fácilmente ser utilizados para la síntesis de ácidos grasos y, en consecuencia, de triacilgliceroles, tanto en el tejido adiposo como en el hígado (desde donde se exporta en lipoproteínas de muy baja densidad). Aún no se dilucida del todo la importancia de la lipogénesis en humanos; en países occidentales la grasa en la dieta de las personas proporciona 35 a 45% de la ingesta de energía, mientras que en países menos desarrollados, donde los carbohidratos llegan a proporcionar 60 a 75% del ingreso de energía, la ingesta total de alimento es tan baja, que de cualquier modo hay poco excedente para la lipogénesis . Una ingesta alta de grasa inhibe la lipogénesis en el tejido adiposo y el hígado.

No es posible emplear para la síntesis de glucosa a los ácidos grasos (y los cuerpos cetónicos formados a partir de ellos). La reacción de la piruvato deshidrogenasa, que forma acetil-CoA, es irreversible, y por cada unidad de dos carbonos proveniente de acetil-CoA que entra al ciclo del ácido cítrico, hay una pérdida de dos átomos de carbono como dióxido de carbono antes de que vuelva a formarse oxalacetato. Eso significa que la acetil-CoA (y, por tanto, cualquier sustrato que la produzca) nunca puede usarse para la gluconeogénesis. Los ácidos grasos (relativamente raros) con un número impar de átomos de carbono dan propionil CoA como el producto final del ciclo de la β-oxidación, y ésta puede ser un sustrato para la gluconeogénesis, como puede serlo el glicerol liberado por medio de la lipólisis de reservas de triacilgliceroles en el tejido adiposo.

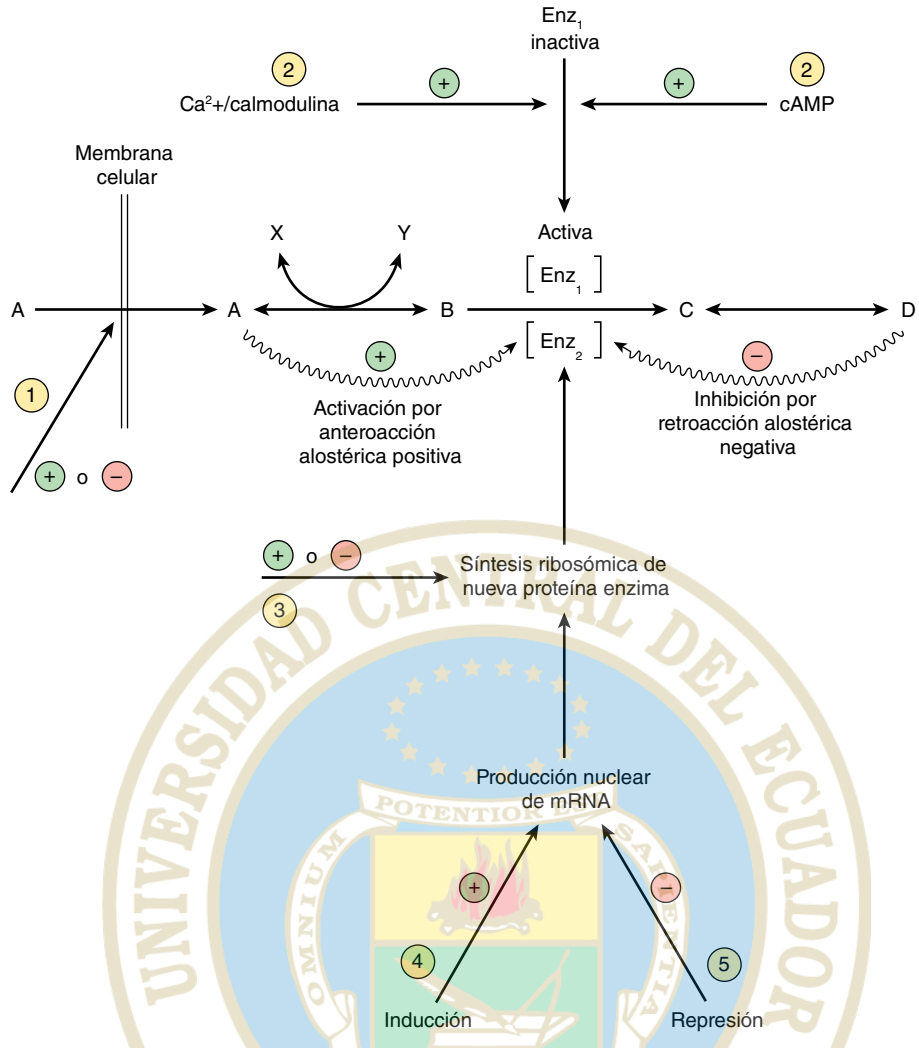


FIGURA 14-8 **Mecanismos de control de una reacción catalizada por enzima**. Los números encerrados en un círculo indican posibles sitios de acción de hormonas: ① alteración de la permeabilidad de membrana; ② conversión de una enzima inactiva en una activa, que por lo regular comprende reacciones de fosforilación/desfosforilación; ③ alteración del índice de traducción del mRNA en el ámbito ribosómico; ④ inducción de la formación de mRNA nuevo, y ⑤ represión de la formación de mRNA. ① y ② son vías rápidas, mientras que ③ a ⑤ son mecanismos de regulación más lentos.

La mayor parte de los aminoácidos que exceden los requerimientos para la síntesis de proteína (que surgen a partir de la dieta o a partir del recambio de proteína en los tejidos) dan piruvato, o intermediarios de 4 y 5 carbonos del ciclo del ácido cítrico (capítulo 29). El piruvato se puede carboxilar hasta oxalacetato, que es el sustrato primario para la gluconeogénesis, y los otros intermediarios del ciclo también dan por resultado un incremento neto de la formación de oxaloacetato, que entonces está disponible para la gluconeogénesis. Estos aminoácidos se clasifican como **glucogénicos**. Dos aminoácidos (lisina y leucina) sólo dan acetil-CoA en el momento de la oxidación y, por consiguiente, no pueden emplearse para la gluconeogénesis, y otros cuatro (fenilalanina, tirosina, triptófano e isoleucina) dan lugar tanto a acetil-CoA como a intermediarios que pueden usarse para gluconeogénesis. Los aminoácidos que dan origen a acetil-CoA se denominan **cetogénicos**, porque en el ayuno y la inanición prolongados gran parte de la acetil-CoA se utiliza para la síntesis de cuerpos cetónicos en el hígado.

EN LOS ESTADOS TANTO DE ALIMENTACIÓN COMO DE AYUNO SE PROPORCIONA UN APORTE DE COMBUSTIBLES METABÓLICOS

El sistema nervioso central y los eritrocitos siempre necesitan glucosa

Los eritrocitos carecen de mitocondrias y, por tanto, en todo momento dependen por completo de la glucólisis (anaeróbica) y de la vía de la pentosa fosfato. El cerebro puede metabolizar cuerpos cetónicos para satisfacer alrededor de 20% de sus requerimientos de energía; el resto debe suministrarse mediante glucosa. Los cambios metabólicos que suceden en el estado de ayuno y en la inanición son las consecuencias de la necesidad de preservar la glucosa y las reservas limitadas de glucógeno en el hígado y los músculos para su uso por el cerebro y los eritrocitos, y de asegurar

el suministro de combustibles metabólicos alternativos para otros tejidos. En el embarazo, el feto requiere una cantidad importante de glucosa, al igual que la síntesis de lactosa durante la lactancia (**figura 14-9**).

En el estado posprandial, se depositan reservas de combustible metabólico

Durante varias horas luego de una comida, mientras se están absorbiendo los productos de la digestión, hay un aporte abundante de combustibles metabólicos. En estas condiciones, la glucosa es el principal combustible para oxidarse en casi todos los tejidos; esto se observa como un aumento en el cociente respiratorio (la relación de dióxido de carbono producido/oxígeno consumido) desde alrededor de 0.8 en el estado de ayuno hasta cerca de 1 (**cuadro 14-1**).

La captación de glucosa en el músculo y el tejido adiposo está controlada por la **insulina**, secretada por las células β de los islotes del páncreas en respuesta a un incremento de la concentración de glucosa en la sangre portal. En el estado de ayuno el transportador de glucosa del músculo y el tejido adiposo (GLUT-4) se encuentra en vesículas intracelulares. Una respuesta temprana a la insulina

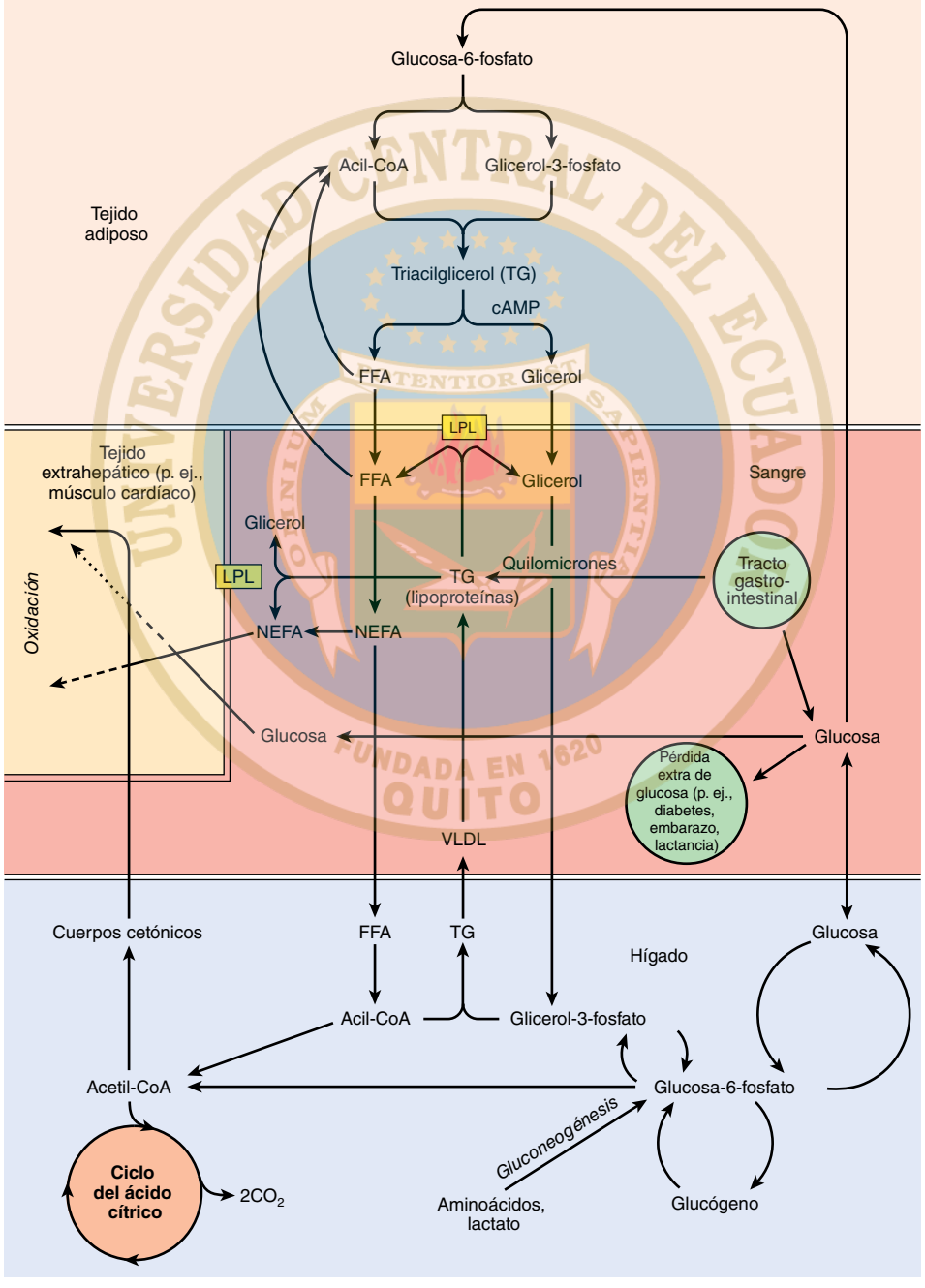


FIGURA 14-9 Interrelaciones metabólicas entre tejido adiposo, el hígado y tejidos extrahepáticos. En tejidos como el corazón, los combustibles metabólicos son oxidados en el orden de preferencia que sigue: cuerpos cetónicos > ácidos grasos > glucosa. (LPL, lipoproteína lipasa; NEFA, ácidos grasos no esterificados; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad).

CUADRO 14-1. Rendimientos de energía, consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono en la oxidación de combustibles metabólicos

	Rendimiento de energía (kJ/g)	O_2 consumido (L/g)	CO_2 producido (L/g)	RQ (CO_2 producido/ O_2 consumido)	Energía (kJ)/L O_2
Carbohidrato	16	0.829	0.829	1.00	~20
Proteína	17	0.966	0.782	0.81	~20
Grasa	37	2.016	1.427	0.71	~20
Alcohol	29	1.429	0.966	0.66	~20

es la migración de estas vesículas hacia la superficie celular, donde se fusionan con la membrana plasmática, lo que expone transportadores de glucosa activos. Estos tejidos sensibles a insulina sólo captan glucosa a partir del torrente sanguíneo en un grado importante, en presencia de la hormona. A medida que la secreción de insulina disminuye en el estado de ayuno, los receptores también se internalizan de nuevo, lo que reduce la captación de glucosa. Sin embargo, en el músculo esquelético, el aumento de la concentración citoplasmática de ion calcio en respuesta a la estimulación nerviosa, estimula la migración de las vesículas hacia la superficie celular, y la exposición de transportadores de glucosa activos sea que haya o no estimulación importante por insulina.

La captación de glucosa en el hígado es independiente de la insulina, pero el hígado tiene una isoenzima de la hexocinasa (glucocinasa) con una K_m alta, de modo que conforme aumentan las concentraciones de glucosa que entran al hígado, también lo hace la velocidad de síntesis de glucosa-6-fosfato. Esto excede el requerimiento del hígado de un metabolismo productor de energía, y se usa principalmente para la síntesis de **glucógeno**. Tanto en el hígado como en el músculo estriado, la acción de la insulina estimula la glucógeno sintetasa e inhibe la glucógeno fosforilasa. Parte de la glucosa adicional que entra al hígado también puede emplearse para lipogénesis y, en consecuencia, para la síntesis de triacilgliceroles. En el tejido adiposo, la insulina estimula la captación de glucosa, su conversión en ácidos grasos, y su esterificación a triacilgliceroles. Inhibe la lipólisis intracelular y la liberación de ácidos grasos libres.

Los productos de la digestión de lípidos entran a la circulación como **quilomicrones**, las lipoproteínas plasmáticas de mayor tamaño, que tienen contenido especialmente alto de triacilgliceroles (capítulo 25). En el tejido adiposo y el músculo estriado, la lipoproteína lipasa extracelular se sintetiza y activa en respuesta a la insulina; los ácidos grasos no esterificados resultantes son captados en su mayor parte por el tejido, y utilizados para la síntesis de triacilgliceroles, mientras que el glicerol permanece en el torrente sanguíneo y es captado por el hígado y usado ya sea para gluconeogénesis y síntesis de glucógeno o lipogénesis. El hígado capta los ácidos grasos que permanecen en el torrente sanguíneo, y vuelve a esterificarlos. Dicho órgano elimina o aclara los quilomicrones remanentes que tienen agotamiento de lípido, y los triacilgliceroles restantes se exportan, junto con los sintetizados en el hígado, en las lipoproteínas de muy baja densidad, **VLDL**.

En condiciones normales, el índice de catabolismo de proteína tisular es más o menos constante durante todo el día; sólo en la **caquexia** que se relaciona con cáncer avanzado y otras enfermedades hay un incremento del índice de catabolismo proteico. Hay catabolismo neto de proteína en el estado de ayuno, cuando el índice de síntesis de proteína disminuye, y síntesis neta de proteínas en el estado posprandial, cuando el índice de síntesis aumenta por un 20 a 25%. De nuevo, el incremento del índice de síntesis de proteína en respuesta a aumento de la disponibilidad de aminoácidos y combustible metabólico, es una respuesta a la acción de la insulina. La síntesis de proteína es un proceso con alto costo de energía; puede responder por hasta 20% del gasto de energía en reposo después de una comida, pero sólo por 9% en el estado de ayuno.

Las reservas de combustible metabólico se movilizan en el estado de ayuno

En el estado de ayuno hay un pequeño decremento de la glucosa plasmática, y luego poco cambio a medida que el ayuno se prolonga hacia inanición. Los ácidos grasos libres plasmáticos se incrementan en el ayuno, pero después aumentan poco más en la inanición; conforme se prolonga el ayuno, hay incremento notorio de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos (acetoacetato y 3-hidroxibutirato) (**cuadro 14-2, figura 14-10**).

En el estado de ayuno, a medida que la concentración de glucosa en la sangre portal que viene del intestino delgado disminuye, también lo hace la secreción de insulina, y el músculo estriado y el tejido adiposo captan menos glucosa. El aumento de la secreción de **glucagón** por las células α del páncreas inhibe la glucógeno sintetasa, y activa la glucógeno fosforilasa en el hígado. La glucosa-6-fosfato resultante es hidrolizada por la glucosa-6-fosfatasa, y se libera glucosa hacia el torrente sanguíneo para uso por el cerebro y los eritrocitos.

CUADRO 14-2 Cifras plasmáticas de combustibles metabólicos (mmol/L) en los estados posprandial y de ayuno

	Posprandial	Ayuno de 40 h	7 días de inanición
Glucosa	5.5	3.6	3.5
Ácidos grasos libres	0.30	1.15	1.19
Cuerpos cetónicos	Insignificante	2.9	4.5

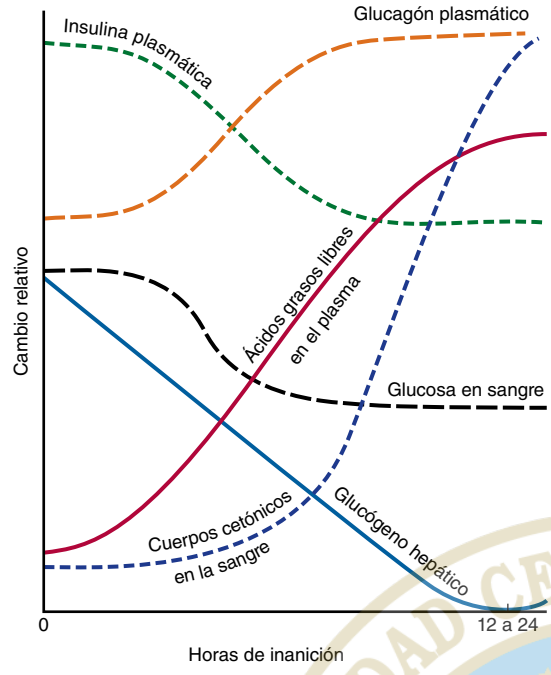


FIGURA 14-10. Cambios relativos de los parámetros metabólicos durante el comienzo de la inanición.

El glucógeno muscular no puede contribuir de manera directa a la glucosa plasmática, puesto que el músculo carece de glucosa-6-fosfatasa, y el propósito primario del glucógeno muscular es proporcionar una fuente de glucosa-6-fosfato para darle energía al propio músculo. Sin embargo, la acetil-CoA formada por medio de oxidación de ácidos grasos en el músculo inhibe la piruvato deshidrogenasa, lo que da pie a una acumulación de piruvato. La mayor parte de éste es transaminado a alanina, a expensas de aminoácidos que surgen por desintegración de proteína muscular. La alanina —y gran parte de los cetoácidos originados por esta transaminación— se exportan desde el músculo y son captados por el hígado, donde la alanina sufre transaminación para producir piruvato. Los aminoácidos resultantes se exportan en su mayor parte de regreso al músculo, para proporcionar grupos amino para la formación de más alanina, mientras que el piruvato es un sustrato importante para gluconeogénesis en el hígado.

En el tejido adiposo la disminución de insulina y el incremento del glucagón resultan en inhibición de la lipogénesis, inactivación e internalización de la lipoproteína lipasa, y activación de la lipasa sensible a hormonas intracelular (capítulo 25). Esto lleva a liberación desde el tejido adiposo de cantidades aumentadas de glicerol (que es un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado) y ácidos grasos libres, que son usados por el hígado, el corazón y el músculo estriado como su combustible metabólico preferido, lo que, por tanto, preserva la glucosa.

Aun cuando el músculo de preferencia capta y metaboliza ácidos grasos libres en el estado de ayuno, no puede satisfacer todos sus requerimientos de energía mediante β-oxidación. En contraste, el hígado tiene una mayor capacidad de β-oxidación que la que se necesita para satisfacer sus propias necesidades de energía, y conforme el ayuno se torna más prolongado, forma más acetil-CoA de la que puede oxidarse. Esta acetil-CoA se usa para sintetizar los **cuerpos cetónicos** (capítulo 22), que son importantes combustibles metabólicos para los músculos estriado y cardíaco, y puede satisfacer hasta 20% de las necesidades de energía del cerebro. En la inanición prolongada, la glucosa llega a representar menos de 10% del metabolismo productor de energía de todo el cuerpo.

En ausencia de otra fuente de glucosa, el glucógeno hepático y muscular se agotarían luego de alrededor de 18 horas de ayuno. A medida que el ayuno se hace más prolongado, una cantidad cada vez mayor de aminoácidos que se liberan como resultado del catabolismo proteico se utiliza en el hígado y los riñones para gluconeogénesis (**cuadro 14-3**).

ASPECTOS CLÍNICOS

En la inanición prolongada, conforme se agotan las reservas de tejido adiposo, hay un incremento muy considerable del índice neto de catabolismo de proteína para proporcionar aminoácidos, no sólo como sustratos para la gluconeogénesis, sino también como el principal combustible metabólico de todos los tejidos. La muerte se produce cuando proteínas tisulares esenciales se catabolizan y no se reemplazan. En pacientes con **caquexia** como resultado de la liberación de **citocinas** en respuesta a tumores, y varios otros estados patológicos, hay un aumento del índice de catabolismo de proteína tisular, así como incremento considerable del índice metabólico, de modo que se encuentran en estado de inanición avanzada. De nuevo, la muerte sobreviene cuando proteínas tisulares esenciales se catabolizan y no son reemplazadas.

La alta demanda de glucosa por el feto y para la síntesis de lactosa durante la lactancia puede llevar a cetosis. Esto llega a observarse como cetosis leve con hipoglucemia en humanos; en ganado vacuno en lactancia y en ovejas que portan una gestación gemelar, puede haber cetoacidosis muy pronunciada e hipoglucemia profunda.

En la **diabetes mellitus** tipo 1 mal controlada, los pacientes llegan a presentar hiperglucemia, en parte como resultado de falta de insulina para estimular la captación y utilización de glucosa, y porque en ausencia de insulina que antagonice con las acciones del glucagón hay aumento de la gluconeogénesis a partir de aminoácidos en el hígado. Al mismo tiempo, la falta de insulina que antagonice las acciones del glucagón ocasiona incremento de la lipólisis en el tejido adiposo, y los ácidos grasos no esterificados resultantes son sustratos para la cetogénesis en el hígado.

La utilización de estos cuerpos cetónicos en el músculo (y en otros tejidos) puede estar alterada debido a la falta de oxalacetato (todos los tejidos tienen un requerimiento de algo de metabolismo de glucosa para mantener una cantidad adecuada de oxalacetato para la actividad del ciclo del ácido cítrico). En la diabetes no controlada, la cetosis puede ser lo bastante grave como para dar por resultado acidosis **(cetoacidosis)** pronunciada dado que el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son ácidos relativamente fuertes. El coma se produce tanto por la acidosis como por el aumento considerable de la osmolalidad del líquido extracelular (principalmente como resultado de hiperglucemia, y diuresis originada por la excreción de glucosa y cuerpos cetónicos en la orina).

RESUMEN

- Los productos de la digestión proporcionan a los tejidos los bloques de construcción para la biosíntesis de moléculas complejas y el combustible para los procesos metabólicos.

CUADRO 14-3 Resumen de las características metabólicas importantes de los principales órganos

Órgano	Principales vías	Principales sustratos	Principales productos exportados	Enzimas especializadas
Hígado	Glucólisis, gluconeogénesis, lipogénesis, β-oxidación, ciclo del ácido cítrico, cetogénesis, metabolismo de lipoproteína, metabolismo de fármacos, síntesis de sales biliares, urea, ácido úrico, colesterol, proteínas plasmáticas	Ácidos grasos libres, glucosa (en el estado posprandial), lactato, glicerol, fructosa, aminoácidos, alcohol	Glucosa, triacilglicerol en VLDL,* cuerpos cetónicos, urea, ácido úrico, sales biliares, colesterol, proteínas plasmáticas	Glucocinasa, glucosa-6-fosfatasa, glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa, fructocinasa, arginasa, HMG CoA sintasa, HMG CoA liasa, alcohol deshidrogenasa
Cerebro	Glucólisis, ciclo del ácido cítrico, metabolismo de aminoácidos, síntesis de neurotransmisor	Glucosa, aminoácidos, cuerpos cetónicos en inanición prolongada	Lactato, productos terminales del metabolismo de neurotransmisor	Aquellas que se usan para la síntesis y el catabolismo de neurotransmisores
Corazón	β-oxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, ácidos grasos libres, lactato, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL, algo de glucosa	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Tejido adiposo	Lipogénesis, esterificación de ácidos grasos, lipólisis (en ayuno)	Glucosa, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL	Ácidos grasos libres, glicerol	Lipoproteína lipasa, lipasa sensible a hormona, enzimas de la vía de la pentosa fosfato
Músculo que se contrae con rapidez	Glucólisis	Glucosa, glucógeno	Lactate, (alanina y cetoácidos en ayuno)	—
Músculo que se contrae con lentitud	β-oxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Riñón	Gluconeogénesis	Ácidos grasos libres, lactato, glicerol, glucosa	Glucosa	Glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa
Eritrocitos	Glucólisis anaeróbica, vía de la pentosa fosfato	Glucosa	Lactato	Hemoglobina, enzimas de la vía de la pentosa fosfato

* VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.

- Casi todos los productos de la digestión de carbohidratos, grasas y proteínas se metabolizan hacia un metabolito común, la acetil-CoA, antes de su oxidación a CO_2 en el ciclo del ácido cítrico.
- La acetil-CoA también es el precursor para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga y esteroides (incluyendo colesterol) y cuerpos cetónicos.
- La glucosa proporciona esqueletos de carbono para el glicerol de triacilgliceroles y aminoácidos no esenciales.
- Los productos hidrosolubles de la digestión son transportados directamente al hígado por medio de la vena porta hepática. El hígado regula las concentraciones sanguíneas de glucosa y aminoácidos disponibles para otros tejidos. Los lípidos y los productos liposolubles de la digestión entran al torrente sanguíneo desde el sistema linfático, y el hígado elimina los remanentes después de que los tejidos extrahepáticos han captado ácidos grasos.
- Las vías están compartamentalizadas dentro de la célula. La glucólisis, glucogénesis, glucogenolisis, la vía de la pentosa fosfato y la lipogénesis ocurren en el citosol. Las mitocondrias contienen las enzimas del ciclo del ácido cítrico, β-oxidación de ácidos grasos, así como la cadena respiratoria y la ATP sintasa. Las membranas del retículo endoplásmico contienen las enzimas para varios otros procesos, entre ellos la síntesis de triacilgliceroles y el metabolismo de fármacos.
- Las vías metabólicas están reguladas por mecanismos rápidos que afectan la actividad de las enzimas existentes, esto es, modificación alostérica y covalente (a menudo en respuesta a la acción hormonal), y mecanismos lentos que afectan la síntesis de enzimas.
- Los carbohidratos y aminoácidos de la dieta que exceden los requerimientos pueden usarse para la síntesis de ácidos grasos y, por consiguiente, de triacilgliceroles.
- En el ayuno y la inanición, debe proporcionarse glucosa para el cerebro y los eritrocitos; en el estado de ayuno temprano, esto se suministra a partir de las reservas de glucógeno. Para preservar la glucosa, el músculo y otros tejidos no la captan cuando la secreción de insulina es baja; utilizan ácidos grasos (y más tarde cuerpos cetónicos) como su combustible preferido.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POTENTIOR EST SCIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

- En el estado de ayuno, el tejido adiposo libera ácidos grasos libres; en el ayuno y la inanición prolongados el hígado los usa para síntesis de cuerpos cetónicos, que se exportan para proporcionar el principal combustible para el músculo.
- La mayor parte de los aminoácidos, provenientes de la dieta o del recambio de proteína en los tejidos, pueden emplearse para gluconeogénesis, al igual que el glicerol proveniente de triacilgliceroles.
- Ni los ácidos grasos —derivados de la dieta o de lipólisis de triacilgliceroles del tejido adiposo— ni los cuerpos cetónicos —formados a partir de ácidos grasos en el estado de ayuno— pueden proporcionar sustratos para la gluconeogénesis.

REFERENCIAS

Bender DA: *Introduction to Nutrition and Metabolism*, 5th ed. CRC Press, 2014.

Brosnan JT: Comments on the metabolic needs for glucose and the role of gluconeogenesis. Eur J Clin Nutr 1999;53:S107–S111.

Frayn KN: Integration of substrate flow in vivo: some insights into metabolic control. Clin Nutr 1997;16:277–282.

Frayn KN: *Metabolic Regulation: A Human Perspective*, 3rd ed. Wiley-Blackwell, 2010.

Zierler K: Whole body metabolism of glucose. Am J Physiol 1999;276:E409–E426.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 15

Carbohidratos importantes desde el punto de vista fisiológico

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar qué se entiende por glucoma, glucobiología y la ciencia de la glucómica.
- Explicar qué significan los términos monosacárido, disacárido, oligosacárido y polisacárido.
- Explicar las diferentes maneras en las cuales pueden representarse las estructuras de la glucosa y de otros monosacáridos, y describir los diversos tipos de isomerismo de azúcares y las estructuras de anillo piranosa y furanosa.
- Describir la formación de glucósidos y las estructuras de los disacáridos y polisacáridos importantes.
- Explicar qué significa el índice glucémico de un carbohidrato.
- Describir los papeles de los carbohidratos en las membranas celulares y las lipoproteínas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los carbohidratos están ampliamente distribuidos en vegetales y animales; tienen importantes funciones estructurales y metabólicas. En los vegetales, la glucosa se sintetiza a partir de dióxido de carbono y agua por medio de fotosíntesis, y es almacenada como almidón o usada para sintetizar la celulosa de las paredes de las células vegetales. Los animales pueden sintetizar carbohidratos a partir de aminoácidos, pero casi todos se derivan finalmente de vegetales. La **glucosa** es el carbohidrato más importante; casi todo el carbohidrato de la dieta se absorbe hacia el torrente sanguíneo como glucosa formada mediante hidrólisis del almidón y los disacáridos de la dieta, y otros azúcares se convierten en glucosa en el hígado. La glucosa es el principal combustible metabólico de mamíferos (excepto de los rumiantes), y un combustible universal del feto. Es el precursor para la síntesis de todos los otros carbohidratos en el cuerpo, incluso **glucógeno** para almacenamiento; **ribosa** y **desoxirribosa** en ácidos nucleicos; **galactosa** en la síntesis de la lactosa de la leche, en glucolípidos, y en combinación con proteína en glucoproteínas (capítulo 46) y proteoglucanos. Las enfermedades relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos son **diabetes *mellitus*, galactosemia, enfermedades por depósito de glucógeno**, e **intolerancia a la lactosa**.

La **glucobiología** es el estudio de las funciones de los azúcares en la salud y la enfermedad. El **glucoma** es la totalidad de azúcares de un organismo, sea libre o presente en moléculas más complejas. La **glucómica**, un término análogo a la genómica y proteómica, es el estudio integral de glucomas, incluso aspectos genéticos, fisiológicos, patológicos y otros.

Un número muy grande de enlaces glucósido puede formarse entre azúcares. Por ejemplo, tres hexosas diferentes pueden ser enlazadas entre sí para formar más de 1 000 trisacáridos diferentes. Las conformaciones de los azúcares en cadenas de oligosacáridos varían en función de sus enlaces y proximidad a otras moléculas con las cuales los oligosacáridos pueden interactuar. Las cadenas de oligosacáridos codifican para **información biológica,** y esto depende de sus azúcares constituyentes, sus secuencias, y sus enlaces.

LOS CARBOHIDRATOS SON DERIVADOS ALDEHÍDO O CETONA DE ALCOHOLES POLIHÍDRICOS

Los carbohidratos se clasifican como sigue:

1. Los **monosacáridos** son los azúcares que no se pueden hidrolizar hacia carbohidratos más simples. Pueden clasificarse como **triosas**, **tetrosas**, **pentosas**, **hexosas** o **heptosas**, dependiendo del número de átomos de carbono (3-7), y

CUADRO 15–1 Clasificación de azúcares importantes

	Aldosas	Cetosas
Triosas ($C_3H_6O_3$)	Glicerosa (gliceraldehído)	Dihidroxiacetona
Tetrosas ($C_4H_8O_4$)	Eritrosa	Eritrulosa
Pentosas ($C_5H_{10}O_5$)	Ribosa	Ribulosa
Hexosas ($C_6H_{12}O_6$)	Glucosa	Fructosa
Heptosas ($C_7H_{14}O_7$)	—	Sedoheptulosa

como **aldosas** o **cetosas**, dependiendo de si tienen un grupo aldehído o cetona. En el **cuadro 15-1** se listan ejemplos. Además de aldehídos y cetonas, los alcoholes polihídricos (alcoholes azúcar o **polioles**), en los cuales el grupo aldehído o cetona se ha reducido a un grupo alcohol, también se encuentran de modo natural en los alimentos. Son sintetizados por medio de reducción de monosacáridos para uso en la manufactura de alimentos para reducción de peso, y para diabéticos. Se absorben poco y tienen alrededor de la mitad del rendimiento de energía de los azúcares.

2. Los **disacáridos** son productos de condensación de dos unidades de monosacárido; los ejemplos son lactosa, maltosa, isomaltosa, sacarosa y trehalosa.
3. Los **oligosacáridos** son productos de condensación de 3 a 10 monosacáridos. Casi ninguno es digerido por las enzimas del ser humano.
4. Los **polisacáridos** son productos de condensación de más de 10 unidades de monosacáridos; los ejemplos son los almidones y las dextrinas, que pueden ser polímeros lineales o ramificados. Los polisacáridos a veces se clasifican como hexosanos o pentosanos, dependiendo de la identidad de los monosacáridos que los constituyen (hexosas y pentosas, respectivamente). Además de almidones y dextrinas, los alimentos contienen una amplia variedad de otros polisacáridos que se conocen en conjunto como polisacáridos no almidón; las enzimas de ser humano no los digieren, y son el principal componente de la fibra en la dieta. Los ejemplos son celulosa (un polímero de glucosa; figura 15-13) de paredes de células vegetales, e inulina (un polímero de fructosa; figura 15-13), el carbohidrato de almacenamiento en algunos vegetales.

DESDE EL PUNTO DE VISTA BIOMÉDICO, LA GLUCOSA ES EL MONOSACÁRIDO DE MAYOR IMPORTANCIA

La estructura de la glucosa puede representarse de tres maneras

La fórmula estructural de cadena recta (aldohexosa; **figura 15-1A**) puede explicar algunas de las propiedades de la glucosa, pero una estructura cíclica (un **hemiacetal** formado por reacción entre el grupo aldehído y un grupo hidroxilo) es favorecida en el aspecto termodinámico y explica otras propiedades. La estructura cíclica normalmente se dibuja como se muestra en la **figura 15-1B**, la proyección de Haworth, en la cual la molécula se ve desde el lado y por arriba del plano del anillo; los enlaces más cercanos al observador son marcados y engrosados, y los grupos hidroxilo están por arriba o por debajo del plano del anillo. En esta figura no se muestran los átomos de hidrógeno fijos a cada carbono. El anillo en realidad tiene forma de una silla (**figura 15-1C**).

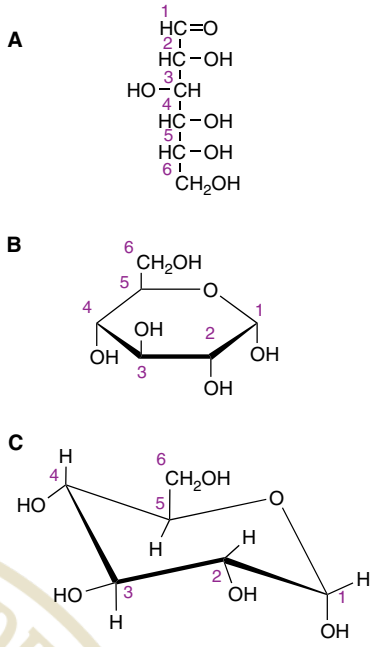


FIGURA 15-1 **D-glucosa**. (**A**) Forma de cadena recta. (**B**) α-D-glucosa; proyección de Haworth. (**C**) α-D-glucosa; forma de silla.

Los azúcares muestran diversas formas de isomerismo

La glucosa, con cuatro átomos de carbono asimétricos, puede formar 16 isómeros. Los tipos de isomerismo de mayor importancia encontrados con la glucosa son:

1. **Isomerismo D y L.** La designación de un isómero de azúcar como la forma D o su imagen en espejo como la forma L está determinada por su relación espacial con el compuesto original de los carbohidratos, el azúcar de tres carbonos glicerosa (gliceraldehído). En la **figura 15-2** se muestran las formas L y D de este azúcar, y de la glucosa. La orientación de los grupos —H y —OH alrededor del átomo de carbono adyacente al carbono alcohol primario terminal (carbón 5 en la glucosa) determina si el azúcar pertenece a la serie D o L. Cuando el grupo —OH en dicho carbono está a la derecha (figura 15-2), el azúcar es el isómero D; cuando está a la izquierda, es el isómero L. Casi todos los monosacáridos que se encuentran en mamíferos son azúcares D, y las enzimas de las cuales depende su metabolismo son específicas para esta configuración.
2. La presencia de átomos de carbono asimétricos también confiere **actividad óptica** al compuesto. Cuando un haz de luz polarizada por plano se hace pasar a través de una solución de un **isómero óptico**, rota hacia la derecha (es dextrorrotatorio [+]), o hacia la izquierda (es levorrotatorio [–]). La

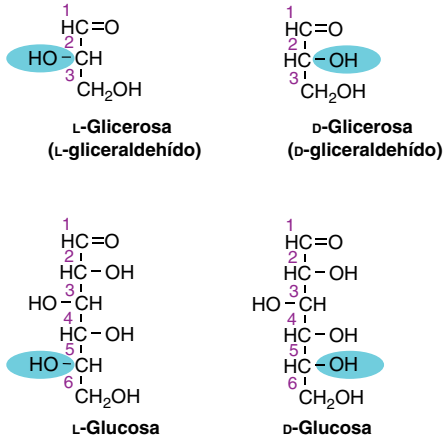


FIGURA 15-2 **D- y L-isomerismo de glicerosa y glucosa.**

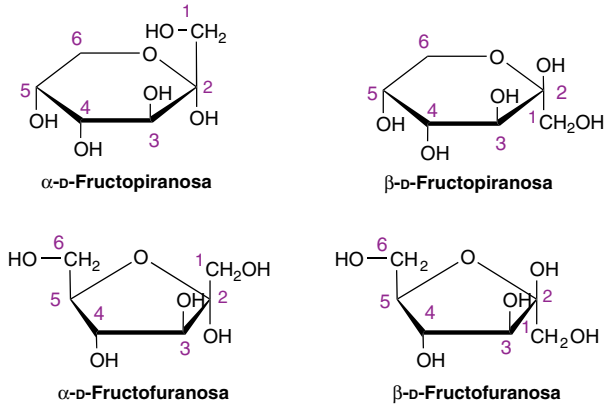


FIGURA 15-4 **Formas piranosa y furanosa de la fructosa.**

dirección de rotación de luz polarizada es independiente de la estereoquímica del azúcar, de modo que puede designarse D(–), D(+), L(–) o L(+); por ejemplo, la forma de fructosa que existe de manera natural es el isómero D (–). Dextrorrotatorio (+) en alguna época se denominó d-, y levorrotatorio (–) l-, lo cual genera confusión. Esta nomenclatura es obsoleta, pero puede encontrarse a veces; no se relaciona con el isomerismo D y L. En solución, la glucosa es dextrorrotatoria y las soluciones de glucosa a veces se conocen como **dextrosa**.

3. **Estructuras en anillo piranosa y furanosa.** Las estructuras en anillo de monosacáridos son similares a las estructuras en anillo de pirano (un anillo de seis miembros) o furano (un anillo de cinco miembros) (**figuras 15-3** y **15-4**). Para la glucosa en solución, más de 99% está en la forma de piranosa.
4. **Anómeros α y β.** La estructura en anillo de una aldosa es hemiacetal, porque se forma por la reacción entre un grupo aldehído y un alcohol. De modo similar, la estructura en anillo de una cetosa es un hemicetal. La glucosa cristalina es α-D-glucopiranosa. La estructura cíclica se retiene en solución, pero ocurre isomerismo alrededor de la posición 1, el carbonilo o **átomo de carbono anomérico**, para dar una mezcla de α-glucopiranosa (38%) y β-glucopiranosa (62%). Menos de 0.3% está representado por anómeros α y β de glucofuranosa.
5. **Epímeros.** Los isómeros que difieren como resultado de variaciones de configuración del —OH y —H en los átomos de carbono 2, 3 y 4 de la glucosa, se conocen como epímeros. Desde el punto de vista biológico, los epímeros de mayor importancia de la glucosa son manosa (epimerizada en el carbono 2) y galactosa (epimerizada en el carbono 4) (**figura 15-5**).
6. **Isomerismo de aldosa-cetosa.** La fructosa tiene la misma fórmula molecular que la glucosa, pero difieren en su estructura, porque hay un grupo ceto potencial en la posición 2, el carbono anomérico de la fructosa, mientras que hay un grupo aldehído potencial en la posición 1, el carbono anomérico de la glucosa En las **figuras 15-6** y **15-7** se muestran ejemplos de azúcares aldosa y cetosa. Desde el punto de vista químico, las aldosas son compuestos reductores y a veces se conocen como azúcares reductores. Esto proporciona la base para una prueba química simple para glucosa en orina en pacientes con diabetes mellitus mal controlada, mediante reducción de una solución de cobre alcalina (capítulo 48).

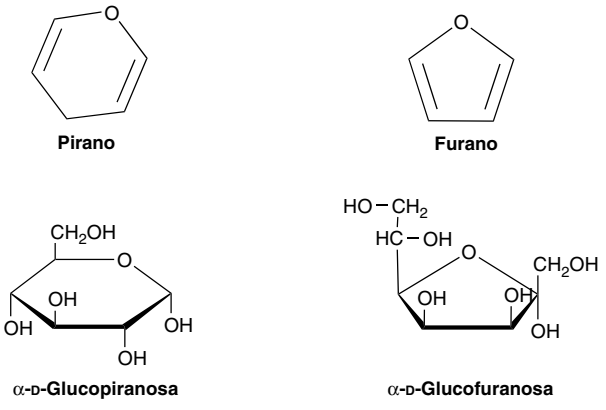


FIGURA 15-3 **Formas piranosa y furanosa de la glucosa.**

Muchos monosacáridos son importantes en el aspecto fisiológico

Los derivados de triosas, tetrosas y pentosas, y de un azúcar de siete carbonos (sedoheptulosa) se forman como intermediarios metabólicos en la glucólisis (capítulo 17) y la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20). Las pentosas son importantes en nucleótidos, ácidos nucleicos y varias coenzimas (**cuadro 15-2**). La glucosa, galactosa, fructosa y manosa son las hexosas de mayor importancia fisiológica (**cuadro 15-3**). Las cetosas importantes desde el punto de vista bioquímico se muestran en la figura 15-6, y las aldosas, en la figura 15-7.

Además, los derivados de la glucosa, del ácido carboxílico, son importantes, entre ellos el D-glucuronato (para la formación de glucurónido y en glucosaminoglucanos) y su derivado

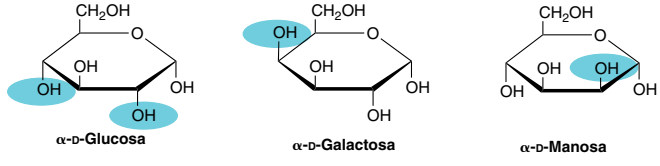


FIGURA 15-5 **Epímeros de la glucosa.**

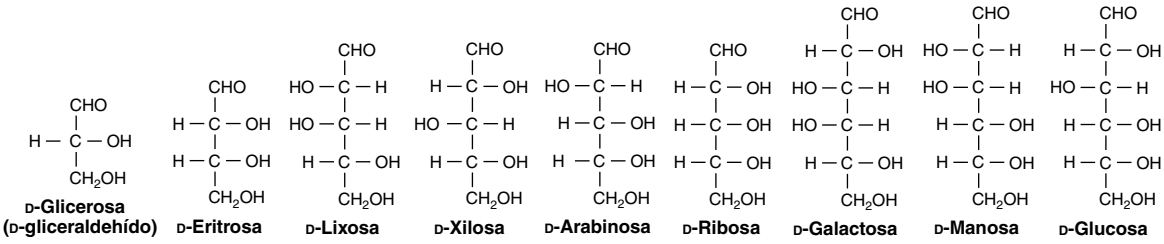


FIGURA 15-6 **Ejemplos de aldosas de importancia fisiológica.**

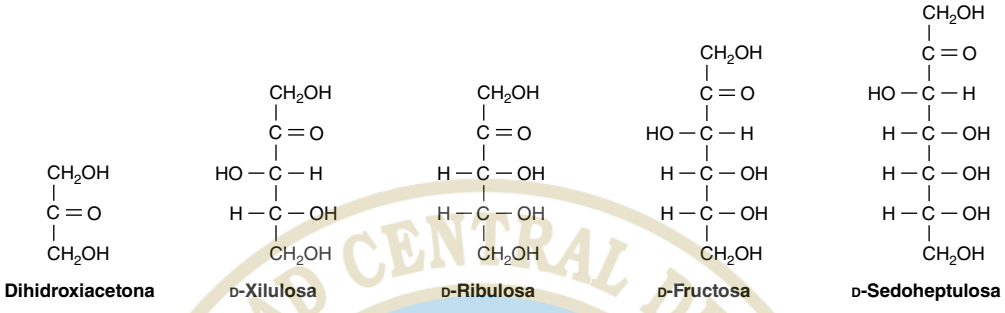


FIGURA 15-7 **Ejemplos de cetosas de importancia fisiológica.**

CUADRO 15-2 **Pentosas de importancia fisiológica**

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica y clínica
D-Ribosa	Ácidos nucleicos e intermediario metabólico	Componente estructural de ácidos nucleicos y coenzimas, incluso ATP, NAD(P) y coenzimas flavina
D-Ribulosa	Intermediario metabólico	Intermediario en la vía de la pentosa fosfato
D-Arabinosa	Gomas vegetales	Constituyente de glucoproteínas
D-Xilosa	Gomas vegetales, proteoglucanos, glucosaminoglucanos	Constituyente de glucoproteínas
L-Xilulosa	Intermediario metabólico	Se excreta en la orina en la pentosuria esencial

metabólico, L-iduronato (en glucosaminoglucanos) (**figura 15-8**) y L-gulonato (un intermediario de la vía del ácido urónico; figura 20-4).

Los azúcares forman glucósidos con otros compuestos y entre sí

Los **glucósidos** se forman por condensación entre el grupo hidroxilo del carbono anomérico de un monosacárido, y un segundo compuesto que puede ser otro monosacárido o, en el caso de una **aglucona**, no es un azúcar. Si el segundo grupo es un hidroxilo, el enlace O-glucosídico es un enlace **acetal** porque se produce por una reacción entre un grupo hemiacetal (formado a partir de un aldehído y un grupo —OH) y otro grupo —OH. Si la porción hemiacetal es glucosa, el compuesto resultante es un **glucósido;** si es galactosa, un **galactósido,** y así sucesivamente. Si el segundo grupo es una amina, se forma un enlace *N*-glucosídico, por ejemplo, entre adenina y ribosa en nucleótidos como ATP (figura 11-4).

CUADRO 15-3 **Hexosas de importancia fisiológica**

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica	Importancia clínica
D-Glucosa	Jugos de frutas, hidrólisis del almidón, azúcar de caña o de remolacha (betabel), maltosa y lactosa	El principal combustible metabólico para los tejidos; "azúcar de la sangre"	Se excreta en la orina (glucosuria) en la diabetes mellitus mal controlada, como resultado de hiperglucemia
D-Fructosa	Jugos de frutas, miel, hidrólisis de azúcar de caña o de remolacha e inulina, isomerización enzimática de jarabe de glucosa para la manufactura de alimentos	Se metaboliza fácilmente por medio de la glucosa o de manera directa	La intolerancia hereditaria a la fructosa lleva a acumulación de fructosa e hipoglucemia
D-Galactosa	Hidrólisis de lactosa	Se metaboliza fácilmente a glucosa; se sintetiza en la glándula mamaria para la síntesis de lactosa en la leche. Un constituyente de glucolípidos y glucoproteínas	La galactosemia hereditaria como resultado de fracaso para metabolizar galactosa lleva a cataratas
D-Manosa	Hidrólisis de gomas manano vegetales	Constituyente de glucoproteínas	

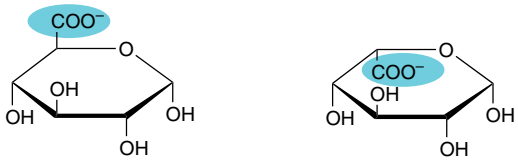


FIGURA 15-8 **α-D-Glucuronato (izquierda) y β-L-iduronato (derecha)**

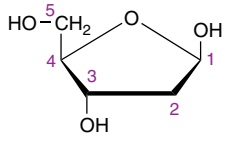


FIGURA 15-9 **2-Desoxi-D-ribofuranosa (forma β).**

Los glucósidos están ampliamente distribuidos en la Naturaleza; la aglucona puede ser metanol, glicerol, un esterol, un fenol, o una base como adenina. Los glucósidos importantes en medicina debido a su acción sobre el corazón (**glucósidos cardíacos**) contienen esteroides como la aglucona. Éstos incluyen derivados de la digital y del estrofanto, como **ouabaína**, un inhibidor de la $Na^+ - K^+$- ATPasa de las membranas celulares. Otros glucósidos comprenden antibióticos como la **estreptomicina**.

Los azúcares desoxi carecen de un átomo de oxígeno

Los azúcares desoxi son aquellos en los cuales un grupo hidroxilo ha quedado reemplazado por hidrógeno. Un ejemplo es la **desoxirribosa** (**figura 15-9**) en el DNA. El azúcar desoxi L-fucosa (figura 15-15) existe en glucoproteínas; la 2-desoxiglucosa se usa de forma experimental como un inhibidor del metabolismo de la glucosa.

Los azúcares amino (hexosaminas) son componentes de glucoproteínas, gangliósidos y glucosaminoglucanos

Los azúcares amino incluyen D-glucosamina, un constituyente del ácido hialurónico (**figura 15-10**), D-galactosamina (también conocida como condrosamina), un constituyente de la condroitina y la D-manosamina. Varios **antibióticos** (p. ej., **eritromicina**) contienen azúcares amino, que son importantes para su actividad antibiótica.

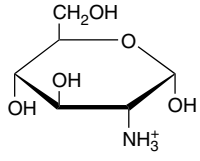


FIGURA 15-10 **Glucosamina (2-amino-D-glucopiranosa) (forma α).** La galactosamina es una 2-amino-D-galactopiranosa. Tanto la glucosamina como la galactosamina existen como derivados *N*-acetilo en carbohidratos más complejos, por ejemplo, glucoproteínas.

La maltosa, la sacarosa y la lactosa son disacáridos importantes

Los disacáridos son azúcares compuestos de dos residuos monosacárido unidos por un enlace glucósido (**figura 15-11**). Los disacáridos importantes en el aspecto fisiológico son maltosa, sacarosa y lactosa (**cuadro 15-4**). La hidrólisis de la sacarosa da una mezcla de glucosa y fructosa denominada "azúcar invertido" porque la fructosa es fuertemente levorrotatoria y cambia (invierte) la acción dextrorrotatoria más débil de la sacarosa.

LOS POLISACÁRIDOS DESEMPEÑAN FUNCIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTRUCTURALES

Los polisacáridos comprenden los siguientes carbohidratos de importancia fisiológica:

El **almidón** es un homopolímero de glucosa que forma una cadena α-glucosídica, llamada **glucosano** o **glucano**. Es el carbohidrato más importante de la dieta en cereales, papas (patatas), legumbres y otras verduras. Los dos constituyentes principales son **amilosa** (13 a 20%), que tiene una estructura helicoidal no ramificada, y **amilopectina** (80 a 87%), que consta de cadenas ramificadas compuestas de 24 a 30 residuos de glucosa con enlaces α1 → 4 en las cadenas, y por enlaces α1 → 6 en los puntos de ramificación (**figura 15-12**).

El grado al cual la amilasa hidroliza el almidón en los alimentos está determinado por su estructura, el nivel de cristalización o hidratación (el resultado del cocinado), y por el hecho de si está encerrado en paredes de células vegetales intactas (e indigeribles). El **índice glucémico** de un alimento feculento es una medida de su digestibilidad, con base en el grado al cual aumenta la concentración de glucosa en sangre en comparación con una cantidad equivalente de glucosa o un alimento de referencia, como pan blanco o arroz hervido. El índice glucémico varía desde 1 (o 100%) para almidones que son fácilmente hidrolizados en el intestino delgado, hasta 0 para los que no son hidrolizados en absoluto.

El **glucógeno** es el polisacárido de almacenamiento en animales, y a veces se llama almidón animal. Es una estructura más ramificada que la amilopectina con cadenas de residuos 12 a 15 α-D-glucopiranosa (en enlace α1 → 4 glucosídico) con ramificación mediante enlaces α1 → 6 glucosídicos. Los gránulos de glucógeno musculares (partículas β) son esféricos y contienen hasta 60 000 residuos de glucosa; en el hígado hay gránulos similares, y rosetas de gránulos de glucógeno que parecen ser partículas β agregadas.

La **inulina** es un polisacárido de la fructosa (un fructosano) que se encuentra en tubérculos y raíces de dalias, alcachofas y dientes de león. Es fácilmente soluble en agua y se usa para determinar el índice de filtración glomerular (capítulo 48), pero las enzimas intestinales no la hidrolizan, de modo que no tiene valor nutricional. Las **dextrinas** son intermediarios en la hidrólisis del almidón. La **celulosa** es el principal constituyente de las paredes de las células vegetales. Es insoluble y consta de unidades de β-D-lucopiranosa unidas por enlaces β1 → 4 para formar cadenas largas y rectas fortalecidas por enlaces de hidrógeno que se entrecruzan. Los mamíferos carecen de enzimas que hidro-

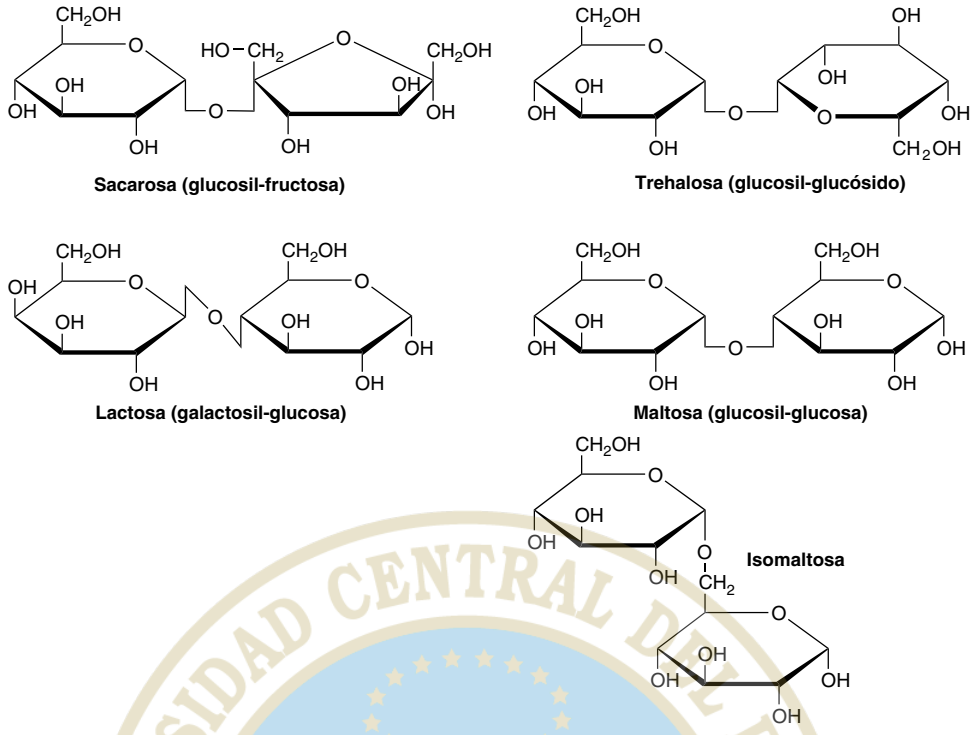


FIGURA 15-11 **Estructuras de disacáridos importantes desde el punto de vista nutricional.**

CUADRO 15-4 **Disacáridos de importancia fisiológica**

Azúcar	Composición	Fuente	Importancia clínica
Sacarosa	O-α-D-glucopiranosil-(1→2)-β-D-fructofuranosida	Azúcar de caña y de remolacha (betabel), sorgo y algunas frutas y verduras	La rara falta genética de sacarasa lleva a intolerancia a la sacarosa —diarrea y flatulencia
Lactosa	O-α-D-galactopiranosil-(1 →4)-β-D-glucopiranosa	Leche (y muchas preparaciones farmacéuticas como relleno)	La falta de lactasa (alactasia) lleva a intolerancia a la lactosa (diarrea y flatulencia); puede excretarse en la orina durante el embarazo.
Maltosa	O-α-D-glucopiranosil-(1 →4)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (amilasa); cereales germinados y malta	
Isomaltosa	O-α-D-glucopiranosil-(1→6)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (los puntos de ramificación en la amilopectina)	
Lactulosa	O-α-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-fructofuranosa	Leche calentada (cantidades pequeñas), principalmente sintética	No es hidrolizada por enzimas intestinales, pero es fermentada por bacterias intestinales; se usa como un laxante osmótico suave
Trehalosa	O-α-D-glucopiranosil-(I→1)-α-D-glucopiranosida	Levaduras y hongos; el principal azúcar de la endolinfa de insectos	

licen los enlaces β1 → 4; de esta manera, no pueden digerir la celulosa. Es una fuente importante de "volumen" en la dieta, y el principal componente de la fibra de la misma. Los microorganismos que se encuentran en el intestino de rumiantes y otros herbívoros pueden hidrolizar el enlace y fermentar los productos hacia ácidos grasos de cadena corta como una importante fuente de energía. Hay cierto metabolismo bacteriano de celulosa en el colon de humanos. La **quitina** es un polisacárido estructural en el exoesqueleto de crustáceos e insectos, y en hongos. Consta de unidades de *N*-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces β1→4 glucosídicos. La **pectina** se encuentra en frutas; es un polímero del ácido galacturónico enlazado α-1 → 4, con algunas ramas de galactosa y/o arabinosa, y está parcialmente metilada (**figura 15-13**).

Los **glucosaminoglucanos** (mucopolisacáridos) son carbohidratos complejos que contienen **azúcares amino** y **ácidos urónicos**. Pueden estar fijos a una molécula de proteína, lo que forma un **proteoglucano**. Los proteoglucanos proporcionan la sustancia fundamental o de relleno del tejido conjuntivo (capítulo 50). Sostienen grandes cantidades de agua y ocupan espa-

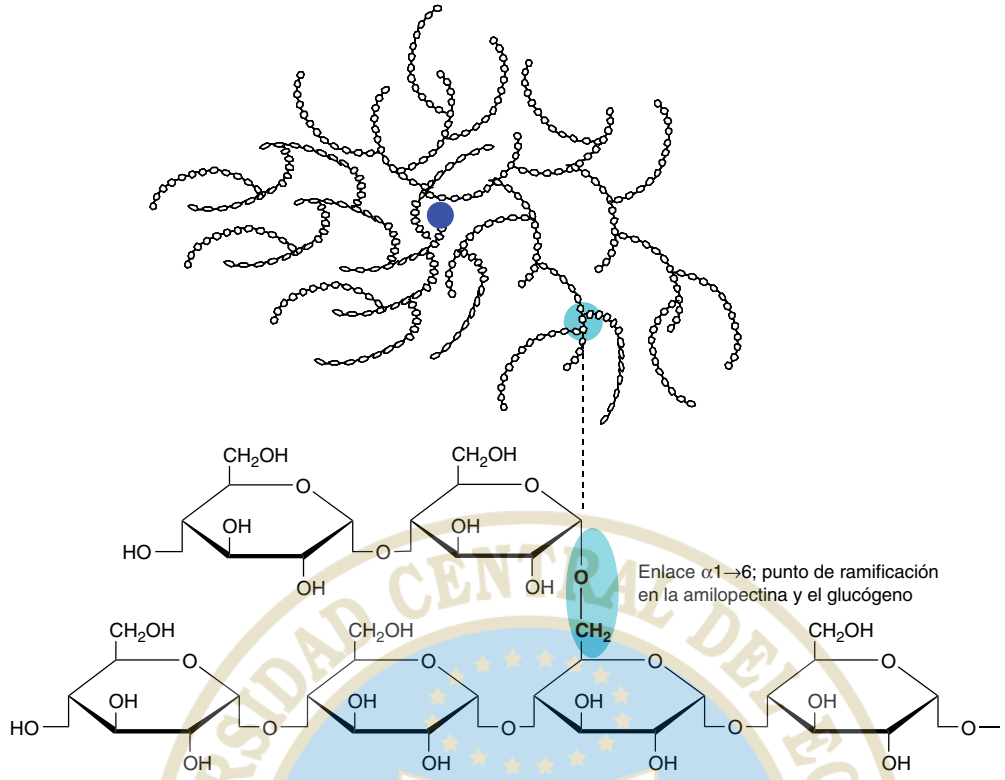
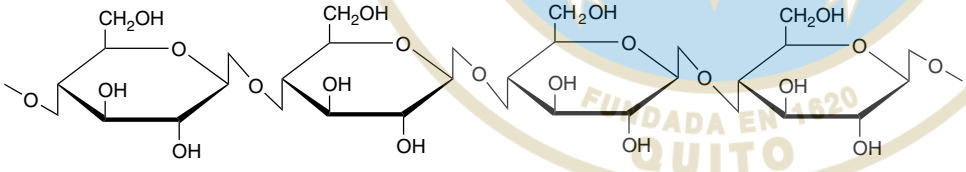
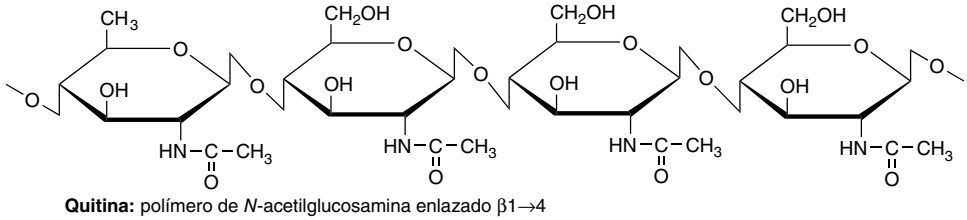


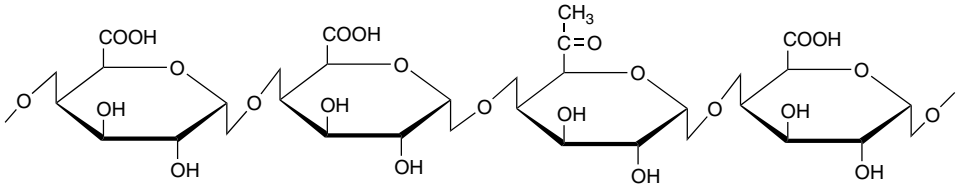
FIGURA 15-12 **La estructura del almidón y el glucógeno.** La amilosa es un polímero lineal de residuos de glucosa enlazados α1 → 4, que se enrolla y forma una hélice. La amilopectina y el glucógeno constan de cadenas cortas de residuos de glucosa enlazadas α1 → 4 con puntos de ramificación formados por enlaces α1 → 6 glucósido. La molécula de glucógeno es una esfera de ~ 21 nm de diámetro, que puede observarse en micrografías electrónicas. Tiene una masa molecular de ~ 10^7 Da, y consta de cadenas de polisacárido, cada una de las cuales contiene alrededor de 13 residuos de glucosa. Las cadenas son ramificadas o no ramificadas, y están dispuestas en 12 capas concéntricas. Las cadenas ramificadas (cada una de las cuales tiene dos ramas) se encuentran en las capas internas, y las cadenas no ramificadas, en la capa más externa. El punto azul en el centro de la molécula de glucógeno es la glucogenina, la molécula cebadora para la síntesis de glucógeno.



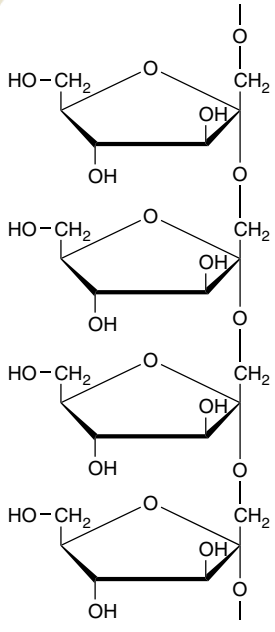
Celulosa: polímero de glucosa enlazado β1→4



Quitina: polímero de *N*-acetilglucosamina enlazado β1→4



Pectina: polímero de ácido galacturónico enlazado α1 → 4, parcialmente metilado; algunas ramas de galactosa y/o arabinosa



Inulina: polímero de fructosa enlazado β2→1

FIGURA 15-13 **Las estructuras de algunos importantes polisacáridos no almidón.**

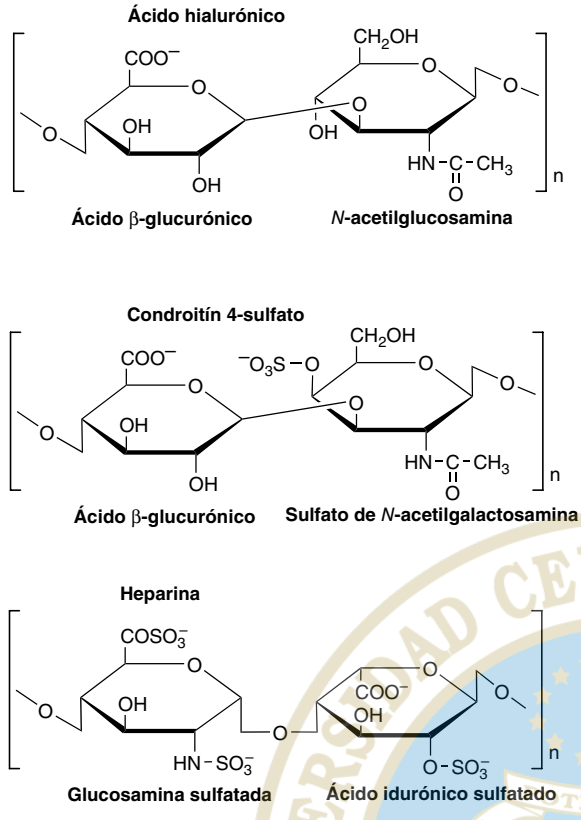


FIGURA 15-14 **Estructura de algunos polisacáridos y glucosaminoglucanos complejos.**

cio, lo que amortigua o lubrica otras estructuras, debido al gran número de grupos —OH y cargas negativas en la molécula que, por repulsión, mantienen separadas las cadenas de carbohidrato. Los ejemplos son el **ácido hialurónico**, el **condroitín sulfato** y la **heparina** (**figura 15-14**).

Las **glucoproteínas** (también conocidas como mucoproteínas) son proteínas que contienen cadenas de oligosacárido ramificadas o no ramificadas (**cuadro 15-5**) **incluyendo fucosa** (**figura 15-15**); se encuentran en membranas celulares (capítulos 40 y 46) y en muchas otras situaciones; la albúmina sérica es una

CUADRO 15-5 **Carbohidratos que se encuentran en glucoproteínas**

Hexosas	Manosa (Man), galactosa (Gal)
Acetil hexosaminas	*N*-acetilglucosamina (GlcNAc), *N*-acetil galactosamina (GalNAc)
Pentosas	Arabinosa (Ara), xilosa (Xil)
Metil pentosa	L-fucosa (Fuc, figura 15-15)
Ácidos siálicos	Derivados *N*-acilo del ácido neuramínico; el ácido siálico predominante es ácido *N*-acetil-neuramínico (NeuAc, figura15-16)

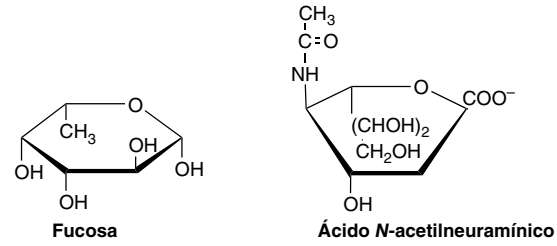


FIGURA 15-15 **β-L-Fucosa (6-desoxi-β-L-galactosa) y ácido N-acetilneuramínico, un ácido siálico.**

glucoproteína. Los **ácidos siálicos** son derivados *N*- u *O*-acilo del ácido neuramínico (figura 15-15); este último es un azúcar de nueve carbonos derivado de la manosamina (un epímero de la glucosamina) y el piruvato. Los ácidos siálicos son constituyentes tanto de **glucoproteínas** como de **gangliósidos**.

LOS CARBOHIDRATOS SE ENCUENTRAN EN MEMBRANAS CELULARES Y EN LIPOPROTEÍNAS

Alrededor de 5% del peso de las membranas celulares es la parte de los carbohidratos en glucoproteínas (capítulo 46) y glucolípidos. Su presencia sobre la superficie externa de la membrana plasmática (el **glucocálix**) se ha mostrado con el uso de **lectinas** vegetales, aglutininas proteínicas que unen residuos glucosilo específicos. Por ejemplo, la **concanavalina A** une residuos α-glucosilo y α-manosilo. La **glucoforina** es una importante glucoproteína de membrana integral de los eritrocitos del ser humano. Tiene 130 residuos aminoácido y abarca la membrana lipídica, con regiones polipeptídicas fuera de las superficies tanto externa como interna (citoplásmica). Las cadenas de carbohidrato están fijas a la porción amino terminal fuera de la superficie externa. Los carbohidratos también están presentes en apo-proteína B de lipoproteínas plasmáticas.

RESUMEN

- El glucoma es la totalidad de azúcares de un organismo, sea libres o presentes en moléculas más complejas. La glucómica es el estudio de los glucomas, incluso aspectos genéticos, fisiológicos, patológicos y otros.
- Los carbohidratos son constituyentes importantes del alimento de los animales y del tejido de éstos. Se caracterizan por el tipo y número de residuos monosacárido en sus moléculas.
- La glucosa es el carbohidrato de mayor importancia en la bioquímica de mamíferos, porque casi todo el carbohidrato en los alimentos se convierte en glucosa para el metabolismo.
- Los azúcares tienen grandes cantidades de estereoisómeros porque contienen varios átomos de carbono asimétricos.
- Los monosacáridos de mayor importancia fisiológica son la glucosa, el "azúcar de la sangre" y la ribosa, un importante constituyente de nucleótidos y ácidos nucleicos.

- Los disacáridos importantes son maltosa (glucosil glucosa), un intermediario en la digestión del almidón; la sacarosa (glucosil fructosa), importante como un constituyente de la dieta, que contiene fructosa, y la lactosa (galactosil glucosa), en la leche.
- El almidón y el glucógeno son polímeros de glucosa de almacenamiento en vegetales y animales, respectivamente. El almidón es la principal fuente de energía en la dieta.
- Los carbohidratos complejos contienen otros derivados de azúcar como azúcares amino, ácidos urónicos y ácidos siálicos. Incluyen proteoglucanos y glucosaminoglucanos, que se relacionan con elementos estructurales de los tejidos, y glucoproteínas, que son proteínas que contienen cadenas de oligosacárido; se encuentran en muchas situaciones, incluso en la membrana celular.
- Las cadenas de oligosacáridos codifican para información biológica, dependiendo de sus azúcares constituyentes y de su secuencia y enlaces.

REFERENCIAS

Champ M, Langkilde A-M, Brouns F, *et al*: Advances in dietary fibre characterisation. Nutrition Res Rev 2003;16:(1)71–82.

Davis BG, Fairbanks AJ: *Carbohydrate Chemistry*. Oxford University Press, 2002.

Garg HC, Cowman KM, Hales CA: *Carbohydrate Chemistry, Biology and Medical Applications*. Elsevier, 2008.

Kiessling LL, Splain RA: Chemical approaches to glycobiology. Ann Rev Biochem 2010;79:619–653.

Lindhorst TK, Thisbe K: *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 3rd ed. Wiley-VCH, 2007.

Sinnott M: *Carbohydrate Chemistry and Biochemistry: Structure and Mechanisms*, Royal Society of Chemistry, 2007.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 16

El ciclo del ácido cítrico: la vía central del metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las reacciones del ciclo del ácido cítrico y las reacciones que llevan a la producción de equivalentes reductores que son oxidados en la cadena de transporte de electrones mitocondrial para dar ATP.
- Comprender la importancia de las vitaminas en el ciclo del ácido cítrico.
- Explicar cómo el ciclo del ácido cítrico proporciona tanto una ruta para el catabolismo de aminoácidos como una ruta para su síntesis.
- Identificar las principales vías anapleróticas que permiten el reabastecimiento de intermediarios del ciclo del ácido cítrico, y cómo está controlado el retiro de oxaloacetato para gluconeogénesis.
- Definir la función del ciclo del ácido cítrico en la síntesis de ácidos grasos.
- Explicar cómo la actividad del ciclo del ácido cítrico está controlada por la disponibilidad de cofactores oxidados.
- Explicar cómo la hiperamonemia puede llevar a pérdida del conocimiento.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs, ciclo del ácido tricarboxílico) es una secuencia de reacciones en las mitocondrias que oxidan la porción acetilo de la acetil-CoA, y reducen coenzimas que se reoxidan por medio de la cadena de transporte de electrones (capítulo 13), enlazada a la formación de ATP.

El ciclo del ácido cítrico es la vía común final para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas porque la glucosa, los ácidos grasos y casi todos los aminoácidos se metabolizan hacia acetil-CoA o intermediarios del ciclo. También tiene una función fundamental en la gluconeogénesis, lipogénesis e interconversión de aminoácidos. Muchos de estos procesos ocurren en casi todos los tejidos, pero el hígado es el único tejido en el cual todos suceden en un grado significativo. En consecuencia, hay profundas repercusiones cuando, por ejemplo, grandes números de células hepáticas quedan dañadas, como en la **hepatitis** aguda, o reemplazadas por tejido conjuntivo (como en la **cirrosis**). Los pocos defectos genéticos de las enzimas del ciclo del ácido cítrico que se han informado se relacionan con daño neurológico grave como resultado de alteración muy considerable de la formación de ATP en el sistema nervioso central.

La hiperamonemia, como ocurre en la enfermedad hepática avanzada, lleva a pérdida del conocimiento, coma y convulsiones como resultado de actividad alterada del ciclo del ácido cítrico, lo que lleva a formación reducida de ATP. El amoníaco disminuye intermediarios del ciclo del ácido cítrico (al retirar el α-cetoglutarato para la formación de glutamato y glutamina), e inhibe también la descarboxilación oxidativa del α-cetoglutarato.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO PROPORCIONA SUSTRATO PARA LA CADENA RESPIRATORIA

El ciclo empieza con la reacción entre la porción acetilo de la acetil-CoA y el ácido dicarboxílico de cuatro carbonos oxaloacetato, lo que forma un ácido tricarboxílico de seis carbonos, el citrato. En las reacciones subsiguientes, se liberan dos moléculas de CO_2, y se regenera el oxaloacetato (**figura 16-1**). Sólo se

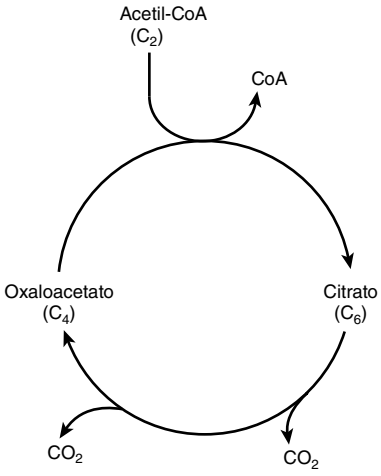


FIGURA 16-1 **El ciclo del ácido cítrico, que ilustra el papel catalítico del oxaloacetato.**

requiere una pequeña cantidad de oxaloacetato para la oxidación de una gran cantidad de acetil-CoA; puede considerarse que desempeña una **función catalítica**, ya que es regenerada al final del ciclo.

El ciclo del ácido cítrico proporciona la principal vía para la formación de ATP enlazada a la oxidación de combustibles metabólicos. Durante la oxidación de acetil-CoA, las coenzimas se reducen y después se reoxidan en la cadena respiratoria, enlazadas a la formación de ATP (fosforilación oxidativa, **figura 16-2**; capítulo 13). Este proceso es **aerobio**; requiere oxígeno como el oxidante final de las coenzimas reducidas. Las enzimas del ciclo del ácido cítrico están ubicadas en la **matriz mitocondrial**, libres o fijas a la membrana mitocondrial interna y la membrana de las crestas, donde también se encuentran las enzimas y coenzimas de la cadena respiratoria (capítulo 13).

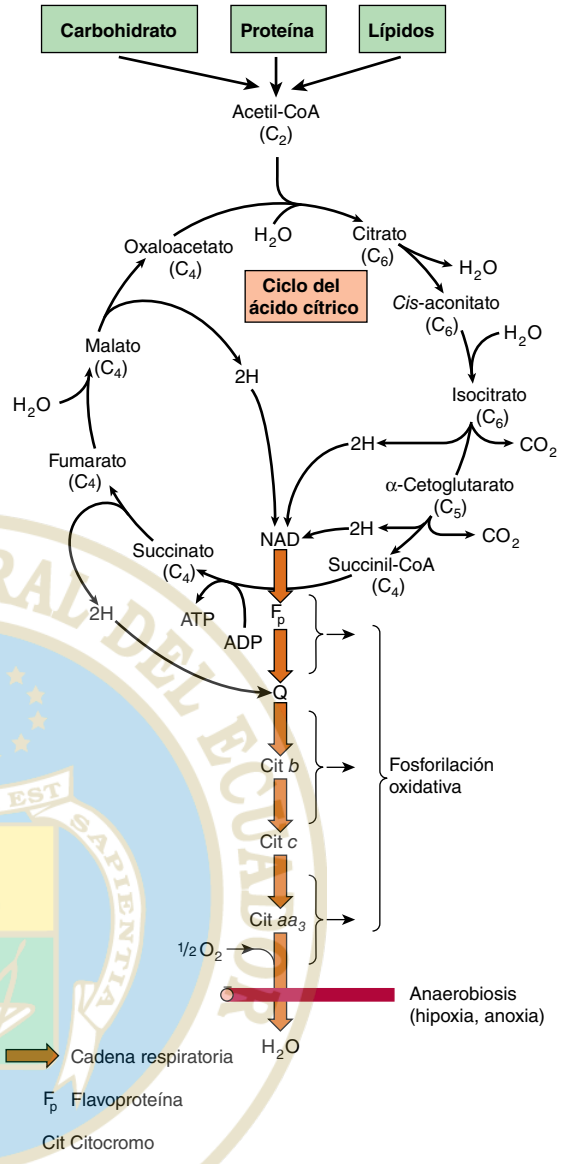


FIGURA 16-2 **El ciclo del ácido cítrico: la principal vía catabólica para la acetil-CoA en organismos aeróbicos.** La acetil-CoA, el producto del catabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, es captada hacia el ciclo y oxidada hacia CO_2, con la liberación de equivalentes reductores (2H). La oxidación subsiguiente de 2H en la cadena respiratoria lleva a fosforilación de ADP hacia ATP. Para una vuelta del ciclo, se generan nueve ATP por medio de fosforilación oxidativa, y surge un ATP (o GTP) en el ámbito de sustrato a partir de la conversión de succinil-CoA en succinato.

LAS REACCIONES DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO LIBERAN EQUIVALENTES REDUCTORES Y CO_2

La reacción inicial entre la acetil-CoA y el oxaloacetato para formar citrato está catalizada por la **citrato sintasa**, que forma un enlace de carbono-carbono entre el carbono metilo de la acetil-CoA y el carbono carbonilo del oxaloacetato (**figura 16-3**). El enlace tioéster de la citril-CoA resultante se hidroliza, lo que libera citrato y CoASH —una reacción exotérmica—.

La enzima **aconitasa** (aconitato hidratasa) isomeriza el citrato hacia isocitrato; la reacción ocurre en dos pasos: deshidratación hacia *cis*-aconitato, y rehidratación hacia isocitrato. Aun cuando el citrato es una molécula simétrica, con la aconitasa reacciona de manera asimétrica, de modo que los dos átomos de carbono que se pierden en reacciones subsiguientes del ciclo no son los que se añadieron provenientes de la acetil-CoA. Tal conducta asimétrica depende de **canalización**: transferencia del producto de la citrato sintasa de manera directa hacia el sitio activo de la aconitasa, sin entrar en solución libre. Esto proporciona integración de la actividad del ciclo del ácido cítrico y el suministro de citrato en el citosol como una fuente de acetil-CoA para la síntesis de ácido graso. El citrato sólo está disponible en solución libre para ser transportado desde las mitocondrias hacia el citosol para la síntesis de ácidos grasos cuando la aconitasa es inhibida por la acumulación de su producto, el isocitrato.

El veneno **fluoroacetato** se encuentra en algunos vegetales y su consumo puede ser mortal para animales que pastan. Algunos compuestos fluorados que se usan como agentes anticáncer y como sustancias químicas industriales (incluso plaguicidas) se metabolizan hacia fluoroacetato. El veneno **fluoroacetato** es tóxico porque la fluoroacetil-CoA se condensa con oxaloacetato para formar fluorocitrato, que inhibe la aconitasa, lo que hace que se acumule citrato.

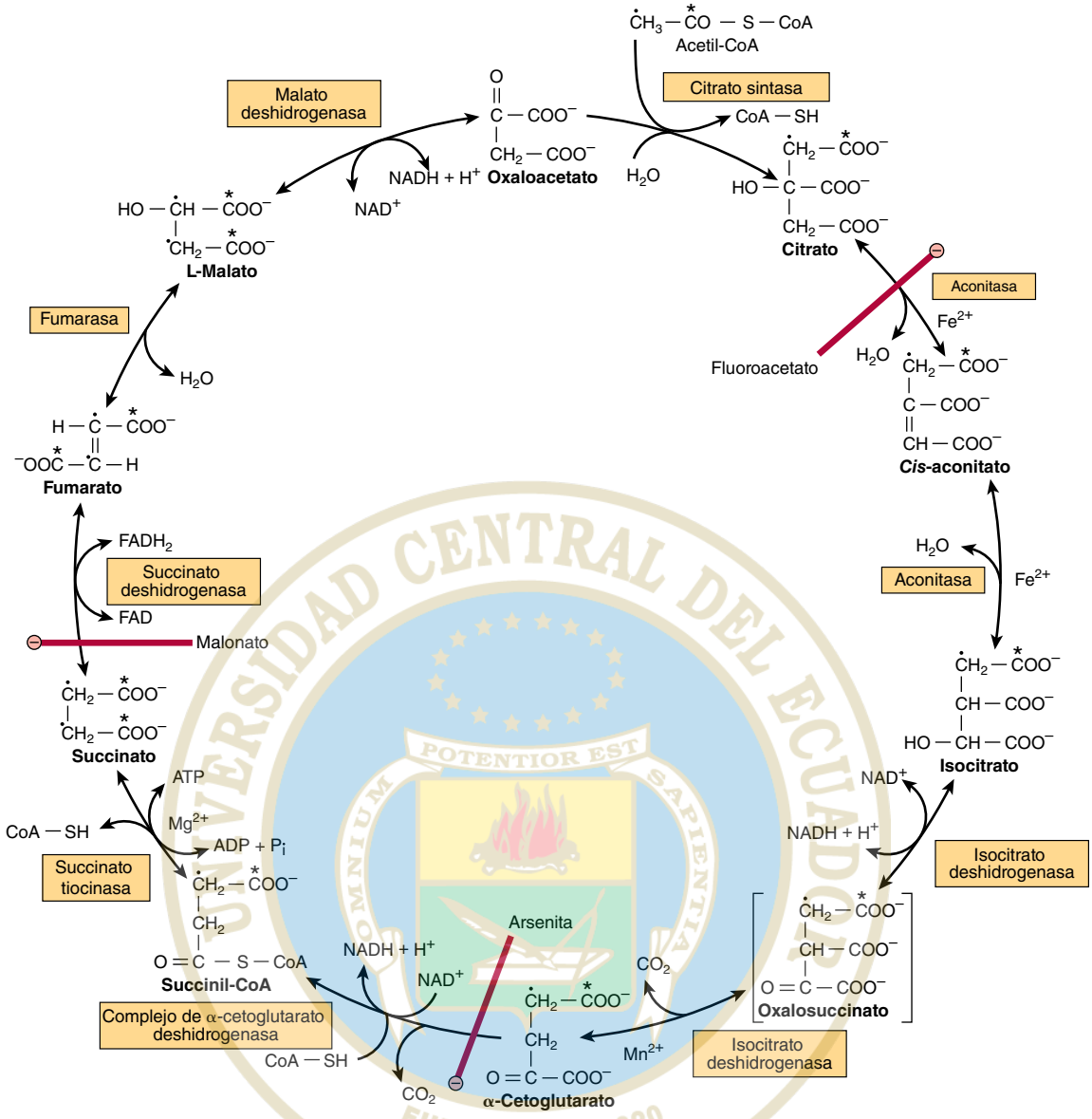


FIGURA 16-3 El ciclo del ácido cítrico (de Krebs). La oxidación de NADH y $FADH_2$ en la cadena respiratoria lleva a la formación de ATP por medio de fosforilación oxidativa. Para seguir el paso de la acetil-CoA por el ciclo, los dos átomos de carbono del radical acetilo se muestran marcados en el carbono carboxilo (*) y en el carbono metilo (•). Aunque dos átomos de carbono se pierden como CO_2 en una vuelta del ciclo, estos átomos no se derivan de la acetil-CoA que ha entrado inmediatamente al ciclo, sino de la porción de la molécula de citrato que se derivó del oxaloacetato. Sin embargo, cuando se completa una vuelta única del ciclo, el oxaloacetato que se regenera ahora está marcado, lo que lleva a que se forme CO_2 marcado durante la segunda vuelta del ciclo. Debido a que el succinato es un compuesto simétrico, en este paso ocurre "aleatorización" de la marca, de modo que los cuatro átomos de carbono del oxaloacetato parecen estar marcados después de una vuelta del ciclo. Durante la gluconeogénesis, parte de la marca en el oxaloacetato es incorporada hacia glucosa y glucógeno (figura 20-1). Se indican los sitios de inhibición (Θ) por fluoroacetato, malonato y arsenita.

El isocitrato pasa por deshidrogenación catalizada por la **isocitrato deshidrogenasa** para formar, en un inicio, oxalosuccinato, que permanece unido a enzima y pasa por descarboxilación hacia α-cetoglutarato. La descarboxilación requiere iones Mg^{2+} o Mn^{2+}. La isocitrato deshidrogenasa tiene tres isoenzimas. Una, que usa NAD^+, sólo se encuentra en mitocondrias; las otras dos usan $NADP^+$ y se ubican en las mitocondrias y en el citosol. La oxidación del isocitrato enlazada a la cadena respiratoria procede casi por completo por medio de la enzima dependiente de NAD^+.

El α-cetoglutarato pasa por **descarboxilación oxidativa** en una reacción catalizada por un complejo de múltiples enzimas similar al involucrado en la descarboxilación oxidativa del piruvato (figura 17-5). El **complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa** requiere los mismos cofactores que el complejo de piruvato deshidrogenasa —difosfato de tiamina, lipoato, NAD^+, FAD y CoA— y origina la formación de succinil-CoA. El equilibrio de esta reacción favorece a tal grado la formación de succinil-CoA, que debe considerarse unidireccional desde el punto de vista

fisiológico. Como sucede con la oxidación del piruvato (capítulo17), la arsenita inhibe la reacción, lo que hace que se acumule el sustrato, **α-cetoglutarato**. Altas concentraciones de amoniaco inhiben la deshidrogenasa de α-cetoglutarato.

La succinil-CoA se convierte en succinato mediante la enzima **succinato tiocinasa (succinil-CoA sintetasa)**; se trata del único ejemplo en el ciclo del ácido cítrico de fosforilación en el ámbito de sustrato. Los tejidos en los cuales ocurre gluconeogénesis (el hígado y los riñones) contienen dos isoenzimas de succinato tiocinasa, una específica para difosfato de guanosina (guanosín difosfato; GDP) y la otra para ADP. El trifosfato de guanosina (guanosín trifosfato; GTP) formado se usa para la descarboxilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato en la gluconeogénesis, y proporciona un enlace regulador entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y el retiro de oxaloacetato para la gluconeogénesis. Los tejidos no gluconeogénicos sólo tienen la isoenzima que usa ADP.

Cuando los cuerpos cetónicos se están metabolizando en tejidos extrahepáticos, hay una reacción alternativa catalizada por la **succinil-CoA-acetoacetato-CoA transferasa (tioforasa)**, que comprende transferencia de CoA desde la succinil-CoA hacia el acetoacetato, lo que forma acetoacetil-CoA y succinato (capítulo 22).

El metabolismo anterógrado de succinato, que lleva a la regeneración de oxaloacetato, es la misma secuencia de reacciones químicas que ocurre en la β-oxidación de ácidos grasos: deshidrogenación para formar un doble enlace de carbono-carbono, adición de agua para formar un grupo hidroxilo, y deshidrogenación adicional para dar el grupo oxo del oxaloacetato.

La primera reacción de deshidrogenación, que forma fumarato, es catalizada por la **succinato deshidrogenasa**, que está unida a la superficie interna de la membrana mitocondrial interna. La enzima contiene FAD y proteína hierro-azufre (Fe:S), y reduce de manera directa la ubiquinona en la cadena de transporte de electrones. La **fumarasa (fumarato hidratasa)** cataliza la adición de agua a través del doble enlace del fumarato, lo que produce malato. La malato deshidrogenasa convierte a este último en oxaloacetato, una reacción que requiere NAD^+. Aunque el equilibrio de esta reacción favorece con fuerza al malato, el flujo neto es hacia el oxaloacetato debido a la eliminación continua de este último (para formar citrato, como un sustrato para la gluconeogénesis, o para pasar por transaminación hacia aspartato), y a la reoxidación continua de NADH.

POR CADA VUELTA DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO SE FORMAN 10 ATP

Como resultado de oxidaciones catalizadas por las deshidrogenasas del ciclo del ácido cítrico, se producen tres moléculas de NADH y una de $FADH_2$ por cada molécula de acetil-CoA catabolizada en una vuelta del ciclo. Estos equivalentes reductores se transfieren hacia la cadena respiratoria (figura 13-3), donde la reoxigenación de cada NADH origina la formación de ~2.5 ATP, y de $FADH_2$, ~1.5 ATP. Además, 1 ATP (o GTP) se forma mediante fosforilación en el ámbito de sustrato catalizada por la succinato tiocinasa.

LAS VITAMINAS DESEMPEÑAN FUNCIONES CLAVE EN EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

Cuatro de las vitaminas B (capítulo 44) son esenciales en el ciclo del ácido cítrico y, por ende, en el metabolismo productor de energía: la **riboflavina**, en forma de flavina adenina dinucleótido (FAD), un cofactor para la succinato deshidrogenasa; **niacina**, en forma de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), el aceptor de electrón para la isocitrato deshidrogenasa, α-cetoglutarato deshidrogenasa, y malato deshidrogenasa; tiamina (**vitamina B_1**), como difosfato de tiamina, la coenzima para la descarboxilación en la reacción de α-cetoglutarato deshidrogenasa, y **ácido pantoténico**, como parte de la coenzima A, el cofactor fijo a residuos ácido carboxílicos "activos" como acetil-CoA y succinil-CoA.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO DESEMPEÑA UNA FUNCIÓN CRUCIAL EN EL METABOLISMO

El ciclo del ácido cítrico no sólo es una vía para la oxidación de unidades de dos carbonos, sino que también es una vía importante para la interconversión de metabolitos que surgen por **transaminación** y **desaminación** de aminoácidos (capítulos 28 y 29), y proporciona los sustratos para la **síntesis de aminoácidos** mediante transaminación (capítulo 27), así como para **gluconeogénesis** (capítulo 20) y **síntesis de ácidos grasos** (capítulo 23). Dado que funciona en procesos tanto oxidativos como sintéticos, es **anfibólico** (**figura 16-4**).

El ciclo del ácido cítrico participa en la gluconeogénesis, transaminación y desaminación

Todos los intermediarios del ciclo son en potencia **glucogénicos**, porque pueden dar lugar a oxaloacetato y, por ende, a producción neta de glucosa (en hígado y riñones, los órganos que llevan a cabo la gluconeogénesis; capítulo 19). La enzima clave que cataliza la transferencia neta hacia afuera del ciclo hacia la gluconeogénesis es la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, la cual cataliza la descarboxilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato; el GTP actúa como el donador de fosfato (figura 19-1). El GTP que se requiere para esta reacción es proporcionado (en el hígado y los riñones) por la isoenzima dependiente de GDP de la succinato tirosinasa. Esto asegura que el oxaloacetato no se retire del ciclo para gluconeogénesis si esto llevaría a la disminución de intermediarios del ciclo del ácido cítrico y, por ende, generación reducida de ATP.

La transferencia neta hacia el ciclo ocurre como resultado de varias reacciones. Entre las más importantes de esas reacciones **anapleróticas**, está la formación de oxaloacetato mediante la carboxilación de piruvato, catalizada por la **piruvato carboxilasa** (figura 16-4). Esta reacción es importante para mantener una concentración adecuada de oxaloacetato para la reacción de condensación con acetil-CoA. Si esta última se acumula, actúa como activador alostérico de la piruvato carboxilasa y como inhibidor de la piruvato deshidrogenasa, lo que asegura un aporte de oxaloacetato. El lactato, un importante sustrato para la gluconeo-

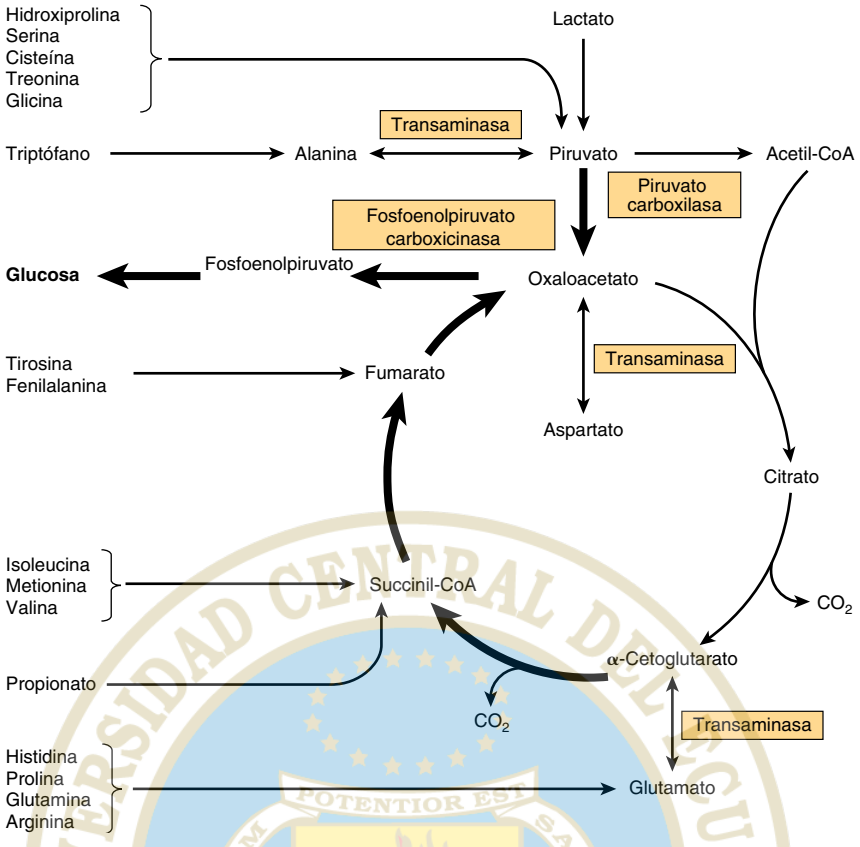


FIGURA 16-4 Participación del ciclo del ácido cítrico en la transaminación y la gluconeogénesis. Las flechas gruesas indican la principal vía de la gluconeogénesis.

génesis, entra al ciclo por medio de oxidación hacia piruvato y después carboxilación hacia oxaloacetato. El **glutamato** y la **glutamina** son sustratos anapleróticos importantes porque dan α-cetoglutarato como resultado de las reacciones catalizadas por la glutaminasa y la glutamato deshidrogenasa. La transaminación de **aspartato** lleva directamente a la formación de oxaloacetato, y diversos compuestos que son metabolizados para dar **propionil CoA**, que puede ser carboxilada e isomerizada a succinil CoA, también son sustratos anapleróticos importantes.

Las reacciones de **aminotransferasa** (transaminasa) forman piruvato a partir de alanina, oxaloacetato a partir de aspartato, y α-cetoglutarato a partir de glutamato. Dado que estas reacciones son reversibles, el ciclo también sirve como una fuente de esqueletos de carbono para la síntesis de estos aminoácidos. Otros aminoácidos contribuyen a la gluconeogénesis porque sus esqueletos de carbono dan origen a intermediarios del ciclo del ácido cítrico. La alanina, cisteína, glicina, hidroxiprolina, serina, treonina y triptófano dan piruvato; la arginina, histidina, glutamina y prolina dan α-cetoglutarato; la isoleucina, metionina y valina dan succinil-CoA; la tirosina y fenilalanina dan fumarato (figura 16-4).

El ciclo del ácido cítrico en sí no proporciona una vía para la oxidación completa de esqueletos de carbono de aminoácidos que dan lugar a intermediarios como α-cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato y oxaloacetato, porque esto da lugar a un incremento de la cantidad de oxaloacetato. Para que ocurra oxidación completa, el oxaloacetato debe pasar por fosforilación y carboxilación a fosfoenolpiruvato (a expensas de GTP) y después por desfosforilación hacia piruvato (catalizada por la piruvato cinasa) y descarboxilación oxidativa hacia acetil CoA (catalizada por la piruvato deshidrogenasa).

En rumiantes, cuyo principal combustible metabólico son los ácidos grasos de cadena corta formados mediante fermentación bacteriana, tiene especial importancia la conversión de propionato, el principal producto glucogénico de la fermentación en el rumen, en succinil-CoA por medio de la vía de la metilmalonil-CoA (figura 19-2).

El ciclo del ácido cítrico participa en la síntesis de ácidos grasos

La acetil-CoA, formada a partir del piruvato mediante la acción de la piruvato deshidrogenasa, es el principal sustrato para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga en no rumiantes (**figura 16-5**). (En rumiantes, la acetil-CoA se deriva de manera directa del acetato). La piruvato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial, y la síntesis de ácidos grasos es una vía citosólica; la membrana mitocondrial es impermeable a acetil-CoA; a fin de que el acetil-CoA esté disponible en el citosol, el citrato es transportado de la mitocondria al citosol y entonces es dividido en una reacción catalizada por la **ATP-citrato liasa** (figura 16-5). El citrato sólo está disponible para transporte hacia afuera de la

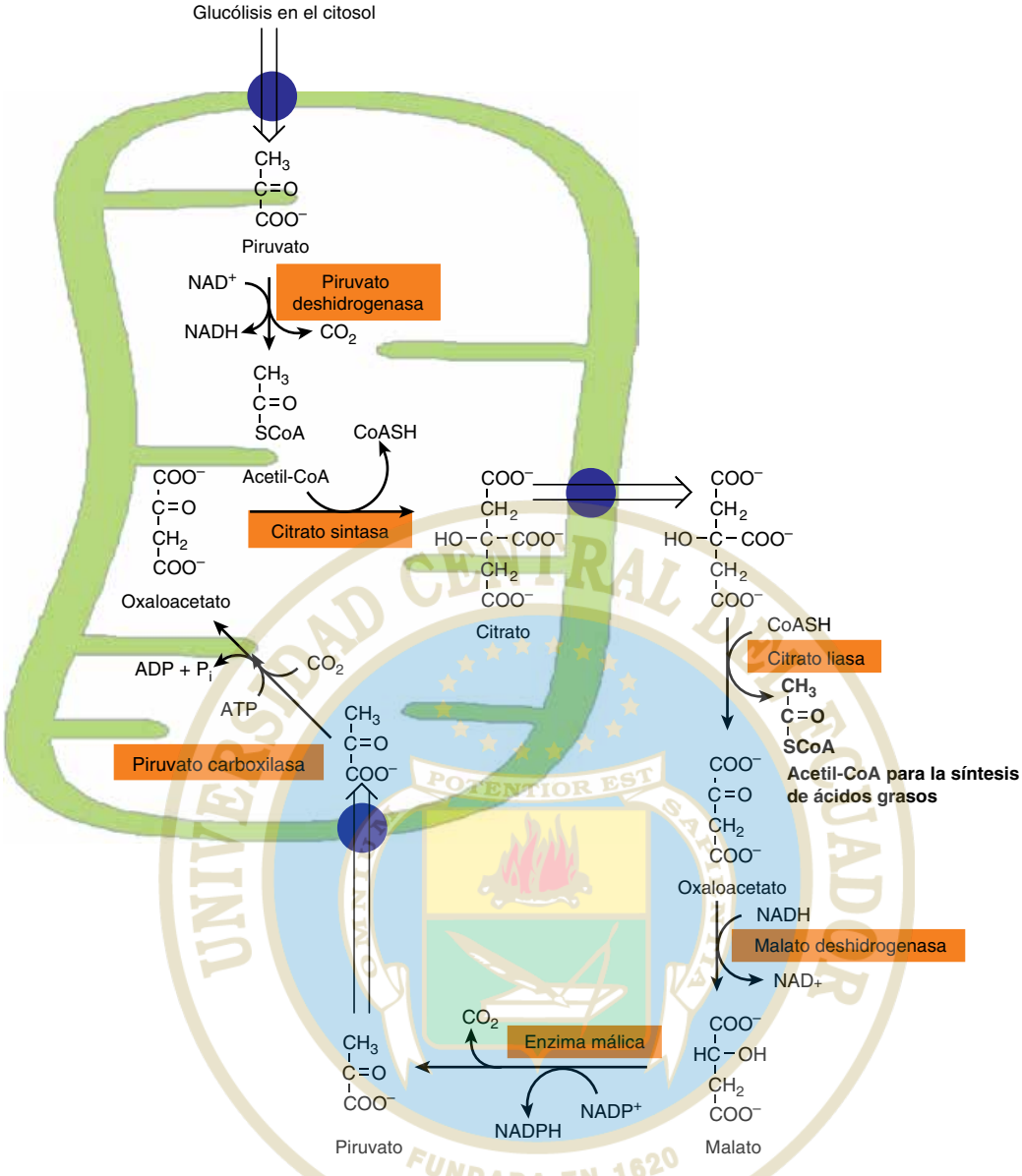


FIGURA 16-5 Participación del ciclo del ácido cítrico en el suministro de acetil-CoA citosólica para la síntesis de ácidos grasos a partir de glucosa. Véase también la figura 23-5.

mitocondria cuando la aconitasa es inhibida por su producto y, por ende, saturada con su sustrato, de modo que el citrato no puede canalizarse directamente desde la citrato sintasa hacia la aconitasa. Esto asegura que el citrato se use para la síntesis de ácidos grasos sólo cuando hay una cantidad adecuada para asegurar actividad continua del ciclo.

El oxaloacetato liberado por la citrato liasa no puede volver a entrar a la mitocondria, sino que es reducido a malato, a expensas de NADH, y el malato pasa por descarboxilación oxidativa hacia piruvato, lo cual reduce el $NADP^+$ a NADPH. Esta reacción, catalizada por la enzima málica, es la fuente de la mitad del NADPH que se requiere para la síntesis de ácidos grasos (el resto es proporcionado por la vía de la pentosa fosfato, capítulo 20). El piruvato entra a la mitocondria, y es carboxilado a oxaloacetato por la piruvato carboxilasa, una reacción dependiente de ATP en la cual la coenzima es la vitamina biotina.

La regulación del ciclo del ácido cítrico depende principalmente de un aporte de cofactores oxidados

En casi todos los tejidos, donde la función primaria del ciclo del ácido cítrico yace en el metabolismo productor de energía, el **control respiratorio** por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa regula la actividad del ciclo del ácido cítrico (capítulo 13). De este modo, la actividad es inmediatamente dependiente del aporte de NAD^+ que, a su vez, debido al estrecho acoplamiento entre la oxidación y fosforilación, depende de la disponibilidad de ADP y, por ende, finalmente del índice de utilización de ATP en trabajo químico y físico. Además, enzimas individuales del ciclo están reguladas. Los sitios más probables para regulación son las reacciones no de equilibrio catalizadas por la piruvato deshidrogenasa, citrato sintasa, isocitrato

deshidrogenasa y α-cetoglutarato deshidrogenasa. Las deshidrogenasas son activadas por Ca^{2+}, que aumenta de concentración durante la contracción muscular y secreción por otros tejidos, cuando hay aumento de la demanda de energía. En un tejido como el cerebro, que depende en su mayor parte de carbohidratos para el aporte de acetil-CoA, el control del ciclo del ácido cítrico puede ocurrir en la piruvato deshidrogenasa. Varias enzimas se encargan de la situación en cuanto a energía, como se demuestra por las proporciones [ATP]/[ADP] y [NADH]/[NAD^+]. De este modo, hay inhibición alostérica de la citrato sintasa por el ATP y acil-CoA grasa de cadena larga. La activación alostérica de la isocitrato deshidrogenasa dependiente de NAD, mitocondrial, por ADP, es contrarrestada por ATP y NADH. El complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa está regulado de la misma manera que la piruvato deshidrogenasa (figura 17-6). La succinato deshidrogenasa es inhibida por el oxaloacetato, y la disponibilidad de este último, según se controla por la malato deshidrogenasa, depende de la proporción [NADH]/[NAD^+]. Dado que la K_m para oxaloacetato de la citrato sintasa es del mismo orden de magnitud que la concentración intramitocondrial, es probable que la concentración de oxaloacetato controle el índice de formación de citrato.

La hiperamonemia, como ocurre en la enfermedad hepática avanzada y en varias enfermedades genéticas (raras) del metabolismo de aminoácidos, lleva a pérdida del conocimiento, coma y convulsiones, y puede ser mortal. Esto se debe mayormente al retiro de α-cetoglutarato para formar glutamato (lo cual es catalizado por la glutamato deshidrogenasa) y después glutamina (lo cual es catalizado por la glutamina sintetasa), lo que da pie a concentraciones reducidas de todos los intermediarios del ciclo del ácido cítrico y, por ende, menor generación de ATP. El equilibrio de la glutamato deshidrogenasa está finamente establecido, y la dirección de la reacción depende de la proporción de NAD^+:NADH y la concentración de iones amonio. Además, el amoníaco inhibe la α-cetoglutarato deshidrogenasa, y posiblemente también la piruvato deshidrogenasa.

RESUMEN

- El ciclo del ácido cítrico es la vía final para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas. Su metabolito terminal común, la acetil-CoA, reacciona con el oxaloacetato para formar citrato. Mediante una serie de deshidrogenaciones y descarboxilaciones, el citrato es degradado, lo que reduce coenzimas, libera dos CO_2 y regenera oxaloacetato.
- Las coenzimas reducidas se oxidan mediante la cadena respiratoria enlazada a la formación de ATP. De este modo, el ciclo es la principal vía para la formación de ATP, y está ubicado en la matriz de mitocondrias adyacente a las enzimas de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.
- El ciclo del ácido cítrico es anfibólico, puesto que además de oxidación, es importante en el suministro de esqueletos de carbono para la gluconeogénesis, la síntesis de ácidos grasos y la interconversión de aminoácidos.

REFERENCIAS

Baldwin JE, Krebs HA: The evolution of metabolic cycles. Nature 1981;291:381.

Bender DA: The metabolism of "surplus" amino acids. Br J Nutr 2012;108(suppl 2): S113.

Bowtell JL, Bruce M: Glutamine: an anaplerotic precursor. Nutrition 2002;18:222.

Briere JJ, Favier J, Giminez-Roqueplo A-P, *et al*: Tricarboxylic acid cycle dysfunction as a cause of human diseases and tumor formation. Am J Physiol Cell Physiol 2006;291:C1114.

Brunengraber H, Roe CR: Anaplerotic molecules: current and future. J Inherit Metab Dis 2006;29:327.

De Meirleir L: Defects of pyruvate metabolism and the Krebs cycle. J Child Neurol 2002;(suppl 3):3S26.

Depeint F, Bruce WR: Mitochondrial function and toxicity: role of the B vitamin family on mitochondrial energy metabolism. Chem Biol Interact 2006;163:94.

Gibala MJ, Young ME: Anaplerosis of the citric acid cycle: role in energy metabolism of heart and skeletal muscle. Acta Physiol Scand 2000;168:657.

Grunengraber H, Roe CR: Anaplerotic molecules: current and future. J Inherit Metab Dis 2006;29:327.

Hertz L, Kala G: Energy metabolism in brain cells: effects of elevated ammonia concentrations. Metab Brain Dis 2007; 22:199–218.

Jitrapakdee S, St Maurice M, Rayment I, *et al*: Structure, mechanism and regulation of pyruvate carboxylase. Biochem J 2008;413:369.

Jitrapakdee S, Vidal-Puig A, Wallace JC: Anaplerotic roles of pyruvate carboxylase in mammalian tissues. Cell Mol Life Sci 2006;63:843.

Kay J, Weitzman PDJ (editors): *Krebs' Citric Acid Cycle—Half a Century and Still Turning*. Biochemical Society, 1987.

Kornberg H: Krebs and his trinity of cycles. Nat Rev Mol Cell Biol 2000;1:225.

Ott P, Clemmesen O, Larsen FS: Cerebral metabolic disturbances in the brain during acute liver failure: from hyperammonemia to energy failure and proteolysis. Neurochem Int 2005;47:13.

Owen OE, Kalhan SC: The key role of anaplerosis and cataplerosis for citric acid cycle function. J Biol Chem 2002;277:30409.

Pithukpakorn M: Disorders of pyruvate metabolism and the tricarboxylic acid cycle. Mol Genet Metab 2005;85:243.

Proudfoot AT, Bradberry SM: Sodium fluoroacetate poisoning. Toxicol Rev 2006;25:2139.

Rama Rao KV, Norenberg MD: Brain energy metabolism and mitochondrial dysfunction in acute and chronic hepatic encephalopathy. Neurochem Int 2012;60:697.

Sumegi B, Sherry AD: Is there tight channelling in the tricarboxylic acid cycle metabolon? Biochem Soc Trans 1991;19:1002.

CAPÍTULO 17

Glucólisis y la oxidación de piruvato

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la vía de la glucólisis y su control, y explicar cómo la glucólisis puede operar en condiciones anaeróbicas.
- Describir la reacción de la piruvato deshidrogenasa y su regulación.
- Explicar cómo la inhibición del metabolismo de piruvato lleva a acidosis láctica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Casi todos los tejidos tienen al menos cierto requerimiento de glucosa. En el cerebro, el requerimiento es considerable, e incluso en ayuno prolongado el cerebro no puede satisfacer más de alrededor de 20% de sus necesidades de energía a partir de cuerpos cetónicos. La glucólisis, la principal vía para el metabolismo de la glucosa, ocurre en el citosol de todas las células. Es singular, por cuanto puede funcionar de manera aerobia o anaerobia, según la disponibilidad de oxígeno y la cadena de transporte de electrones. Los eritrocitos, que carecen de mitocondrias, dependen por completo de la glucosa como su combustible metabólico y la metabolizan mediante glucólisis anaeróbica. Sin embargo, oxidar glucosa más allá del piruvato (el producto terminal de la glucólisis) requiere tanto oxígeno como sistemas de enzimas mitocondriales: el complejo de piruvato deshidrogenasa, el ciclo del ácido cítrico (capítulo 16) y la cadena respiratoria (capítulo 13).

La glucólisis es la principal ruta para el metabolismo de los carbohidratos. La capacidad de la glucólisis para proporcionar ATP en ausencia de oxígeno tiene especial importancia, porque esto permite al músculo estriado tener un desempeño a cifras muy altas de gasto de trabajo cuando el aporte de oxígeno es insuficiente, y permite a los tejidos sobrevivir a episodios de anoxia. Sin embargo, el músculo cardiaco, que está adaptado para el desempeño aerobio, tiene actividad glucolítica relativamente baja, y poca supervivencia en condiciones de **isquemia**. Las enfermedades en las cuales hay deficiencia de las enzimas de la glucólisis (p. ej., piruvato cinasa) se observan sobre todo como **anemias hemolíticas** o, si el defecto afecta el músculo estriado (p. ej., fosfofructocinasa), como **fatiga**. En las células cancerosas en crecimiento rápido, la glucólisis procede a un índice alto, formando grandes cantidades de piruvato, el cual es reducido hacia lactato y exportado. Esto produce un ambiente local hasta cierto punto ácido en el tumor, mismo que puede tener inferencias para la terapia del cáncer. El lactato se usa para gluconeogénesis en el hígado (capítulo 19), proceso costoso en cuanto a energía, del cual depende gran parte del **hipermetabolismo** que se observa en la **caquexia por cáncer**. La **acidosis láctica** se produce por varias causas, entre ellas actividad alterada de la piruvato deshidrogenasa, especialmente en la deficiencia de tiamina (vitamina B_1).

LA GLUCÓLISIS PUEDE FUNCIONAR EN CONDICIONES ANAEROBIAS

En las primeras investigaciones de la glucólisis quedó de manifiesto que la fermentación en levaduras era similar a la desintegración de glucógeno en el músculo. Fue evidente que cuando un músculo se contrae en un medio anaerobio, el **glucógeno desaparece** y **aparece lactato**; cuando se admite oxígeno, tiene lugar la recuperación aerobia, y ya no se produce lactato. No obstante, si ocurre contracción en condiciones aerobias, no hay acumulación de lactato, y el piruvato es el principal producto terminal de la glucólisis. El piruvato se oxida más hacia CO_2 y agua (**figura 17-1**). Cuando hay carencia de oxígeno, la reoxidación mitocondrial de NADH formado durante la glucólisis está alterada, y el NADH se reoxida al reducir piruvato a lactato, de modo que se permite que continúe la glucólisis. Si bien la glucólisis puede ocurrir en condiciones anaerobias, esto tiene un precio, puesto que limita la cantidad de ATP formado por cada mol de glucosa oxidada, de modo que debe metabolizarse mucha más glucosa en condiciones anaerobias que en condiciones aerobias (cuadro 17-1). En levaduras y algunos otros microorganismos, el piruvato formado en la glucólisis anaerobia no se reduce a lactato, sino que se descarboxila y reduce a etanol.

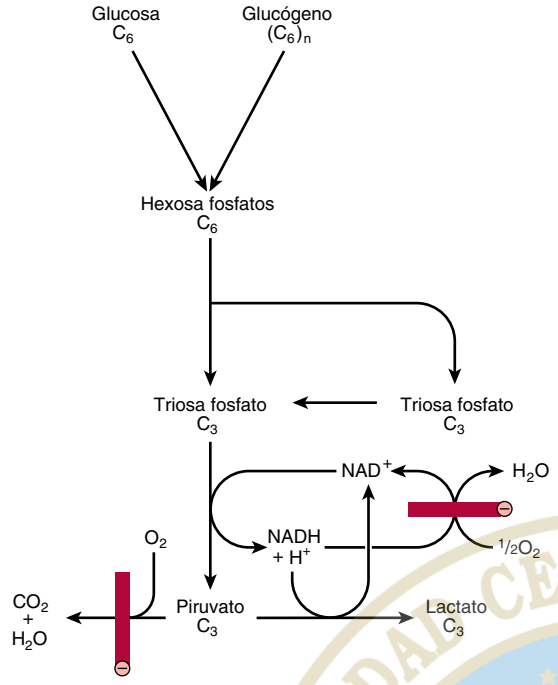


FIGURA 17-1 **Resumen de la glucólisis.** ⊖, bloqueada bajo por condiciones anaeróbicas o por falta de mitocondrias que contienen enzimas respiratorias clave, como en los eritrocitos.

LAS REACCIONES DE LA GLUCÓLISIS CONSTITUYEN LA PRINCIPAL VÍA DE UTILIZACIÓN DE GLUCOSA

La ecuación general para la glucólisis de glucosa a lactato es como sigue:

$$\text{Glucosa} + 2\ \text{ADP} + 2\ P_i \rightarrow 2\ \text{Lactato} + 2\ \text{ATP} + 2\ H_2O$$

Todas las enzimas de la glucólisis (**figura 17-2**) son citosólicas. La glucosa entra a la glucólisis por medio de fosforilación hacia glucosa 6-fosfato, catalizada por la **hexocinasa**, usando ATP como el donador de fosfato. En condiciones fisiológicas, la fosforilación de glucosa hacia glucosa 6-fosfato puede considerarse irreversible. La hexocinasa es inhibida de manera alostérica por su producto, la glucosa 6-fosfato.

En tejidos que no son el hígado (y en las células β de los islotes pancreáticos), la disponibilidad de glucosa para glucólisis (o para síntesis de glucógeno en el músculo, capítulo 18, y lipogénesis en el tejido adiposo, capítulo 23) se controla mediante transporte hacia la célula, que a su vez está regulado por la **insulina**. La hexocinasa tiene afinidad alta (K_m baja) por la glucosa, y en el hígado está saturada en condiciones normales y, así, actúa a un índice constante para proporcionar glucosa 6-fosfato para satisfa-

CUADRO 17-1 **Formación de ATP en el catabolismo de la glucosa**

Vía	Reacción catalizada por	Método de formación de ATP	ATP por mol de glucosa
Glucólisis	Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5[a]
	Fosfoglicerato cinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
	Piruvato cinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
			9
	Consumo de ATP para reacciones de hexocinasa y fosfofructocinasa		−2
			7 netos
Ciclo del ácido cítrico	Piruvato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	Isocitrato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	α-Cetoglutarato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	Succinato tiocinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
	Succinato deshidrogenasa	Oxidación de 2 $FADH_2$ en la cadena respiratoria	3
	Malato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
			25 netos
	Total por mol de glucosa en condiciones aerobias		32
	Total por mol de glucosa en condiciones anaerobias		2

[a] Esto supone que el NADH formado en la glucólisis se transporta hacia las mitocondrias mediante la lanzadera de malato (figura 13-13). Si se usa la lanzadera de glicerofosfato, sólo se formarán 1.5 ATP por cada mol de NADH. Note que hay una ventaja considerable en el uso de glucógeno en lugar de glucosa para la glucólisis anaerobia en el músculo, porque el producto de la glucógeno fosforilasa es la glucosa 1-fosfato (figura 18-1), que es interconvertible con glucosa 6-fosfato. Esto ahorra el ATP que de otro modo sería usado por la hexocinasa, lo que aumenta el rendimiento neto de ATP de 2 a 3 por cada glucosa.

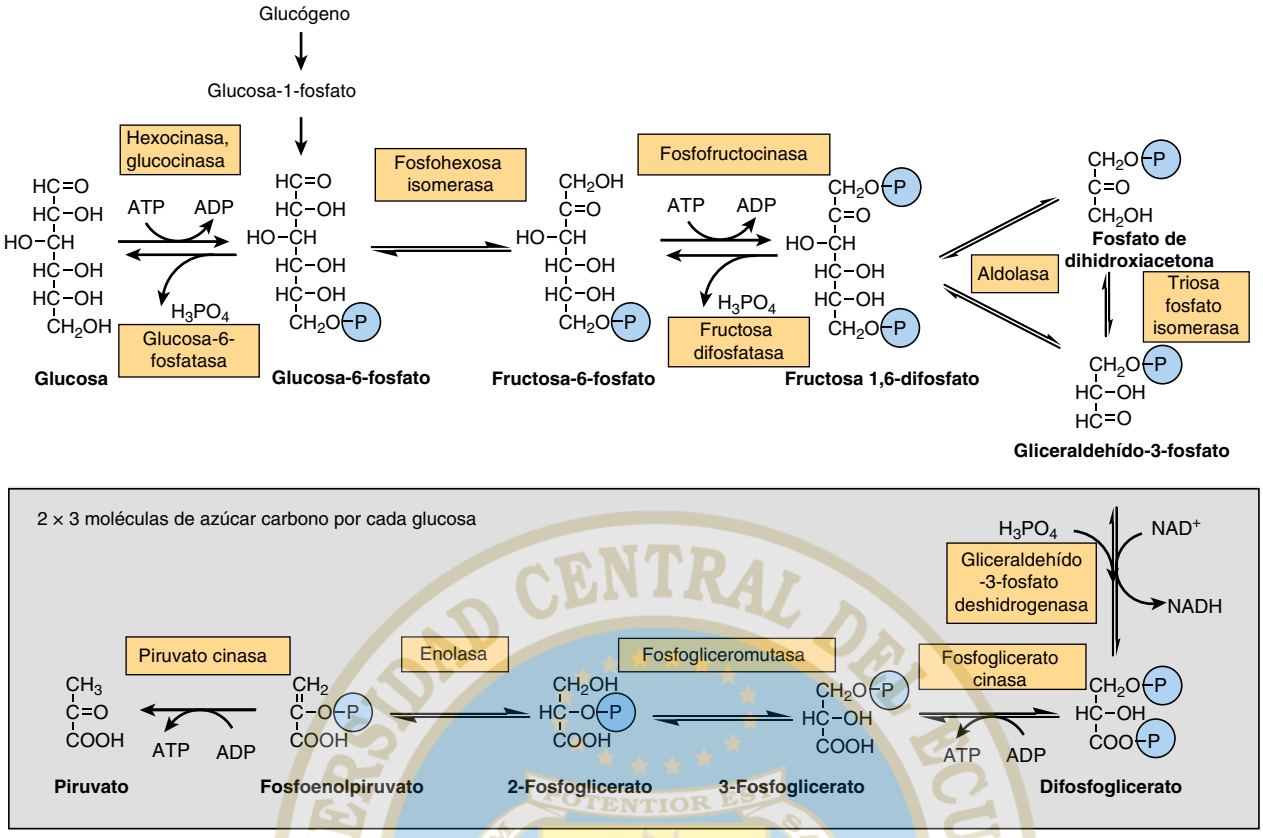


FIGURA 17-2 **La vía de la glucólisis.** (Ⓟ$_3^{2-}$; P_i, $HOPO_3^{2-}$; ⊖, inhibición.) *Los carbonos 1-3 del difosfato de fructosa forman fosfato de dihidroxiacetona, y los carbonos 4-6 forman gliceraldehído-3-fosfato.

cer las necesidades hepáticas. Las células del hígado también contienen una isoenzima de la hexocinasa, la **glucocinasa**, que tiene una K_m mucho más alta que la concentración intracelular normal de glucosa. La función de la glucocinasa en el hígado es eliminar glucosa de la sangre portal hepática después de una comida, de modo que regula la concentración de glucosa disponible para los tejidos periféricos. Esto proporciona más glucosa 6-fosfato que la que se requiere para la glucólisis; se usa para la síntesis de glucógeno y la lipogénesis. La glucocinasa también se encuentra en las células beta de los islotes pancreáticos, donde funciona para detectar concentraciones altas de glucosa. Conforme más glucosa es fosforilada por la glucocinasa, hay un aumento de la glucólisis, lo cual lleva a incremento de la formación de ATP. Esto conduce al cierre de un canal de ATP-potasio, lo cual causa despolarización de membrana y abertura de un canal de calcio sensible a voltaje. El flujo hacia adentro de iones de calcio resultante lleva a fusión de los gránulos secretores de insulina con la membrana celular y liberación de insulina.

La glucosa 6-fosfato es un importante compuesto en la unión de varias vías metabólicas: glucólisis, gluconeogénesis (capítulo 19), la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20), glucogénesis y glucogenolisis (capítulo 18). En la glucólisis se convierte en fructosa 6-fosfato mediante la **fosfohexosa isomerasa,** que comprende una isomerización aldosa-cetosa. Esta reacción va seguida por otra fosforilación catalizada por la enzima **fosfofructocinasa** (fosfofructocinasa-1) que forma fructosa 1,6-bisfosfato. En condiciones fisiológicas puede considerarse que la reacción de la fosfofructocinasa es funcionalmente irreversible; y es tanto inducible como sujeta a regulación alostérica, y tiene una participación importante en la regulación del índice de glucólisis. La **aldolasa** (fructosa 1,6-bisfosfato aldolasa) divide a la fructosa 1,6-bisfosfato en dos triosa fosfatos, el gliceraldehído 3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato. La enzima **fosfotriosa isomerasa** interconvierte estos dos últimos compuestos.

La glucólisis continúa con la oxidación de gliceraldehído 3-fosfato a 1,3-bisfosfoglicerato. La enzima que cataliza esta oxidación, **gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa,** es dependiente del NAD. Desde el punto de vista estructural consta de cuatro polipéptidos idénticos (monómeros) que forman un tetrámero. En cada polipéptido hay cuatro grupos —SH, derivados de residuos cisteína dentro de la cadena polipeptídica. Uno de los grupos —SH se encuentra en el sitio activo de la enzima (**figura 17-3**). El sustrato inicialmente se combina con este grupo —SH, lo que forma un tiohemiacetal que se oxida hacia un tiol éster; los hidrógenos eliminados en esta oxidación se transfieren al NAD^+. El tiol éster después pasa por fosforólisis; se agrega fosfato inorgánico (P_i), lo que forma 1,3-bisfosfoglicerato y el grupo —SH se reconstituye.

En la reacción siguiente, catalizada por la **fosfoglicerato cinasa**, el fosfato se transfiere desde el 1,3-bisfosfoglicerato hacia ADP, lo que forma ATP (fosforilación en el ámbito de sustrato) y 3-fosfoglicerato. Dado que se forman dos moléculas de triosa fosfato

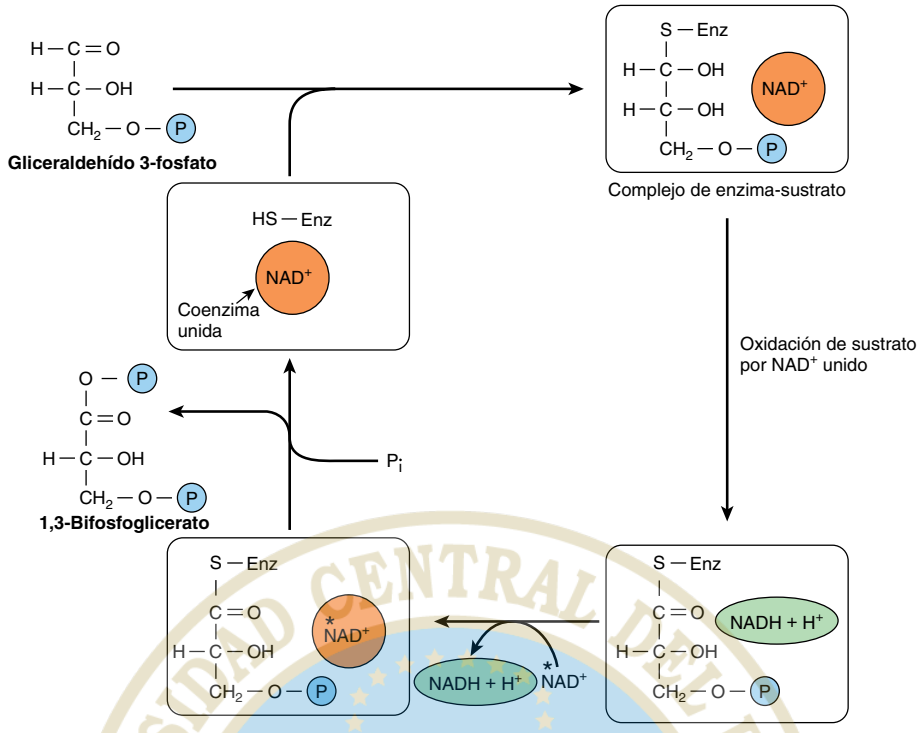


FIGURA 17-3 Mecanismo de oxidación del gliceraldehído 3-fosfato. (Enz, gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa.) La enzima es inhibida por el veneno —SH yodoacetato que, así, es capaz de inhibir la glucólisis. El NADH producido sobre la enzima no está tan firmemente unido a esta última como el NAD^+. En consecuencia, el NADH es desplazado fácilmente por otra molécula de NAD^+.

por cada molécula de glucosa que pasa por glucólisis, en esta reacción se forman dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa que pasa por glucólisis. La toxicidad del arsénico depende de la competencia del arsenato con el fosfato inorgánico (P_i) en esta reacción anterior para dar 1-arseno-3-fosfoglicerato, que se hidroliza de manera espontánea hacia 3-fosfoglicerato sin formar ATP. La **fosfoglicerato mutasa** isomeriza el 3-fosfoglicerato hacia 2-fosfoglicerato. Es probable que el 2,3-bisfosfoglicerato (difosfoglicerato, DPG) sea un intermediario en esta reacción.

El paso subsiguiente es catalizado por la **enolasa**, y comprende una deshidratación, lo que forma fosfoenolpiruvato. La enolasa es inhibida por el **fluoruro,** y cuando se obtienen muestras de sangre para medición de glucosa, la glucólisis es inhibida al tomar la muestra en tubos que contienen fluoruro. La enolasa también depende de la presencia de Mg^{2+} o Mn^{2+}. El fosfato del fosfoenolpiruvato se transfiere hacia el ADP en otro nivel de sustrato de fosforilación catalizado mediante la **piruvato cinasa** para formar dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa oxidada. La reacción de la piruvato cinasa es en esencia irreversible en condiciones fisiológicas, debido en parte al gran cambio de energía libre involucrado, y en parte a que el producto inmediato de la reacción catalizada por enzima es el enol-piruvato, que pasa por isomerización espontánea hacia piruvato, de modo que el producto de la reacción no está disponible para pasar por la reacción inversa.

La disponibilidad de oxígeno ahora determina cuál de las dos vías se sigue. En **condiciones anaeróbicas**, el NADH no puede ser reoxidado por medio de la cadena respiratoria y el piruvato se reduce a lactato, lo cual es catalizado por la **lactato deshidrogenasa**. Esto permite la oxidación de NADH, lo que hace posible que otra molécula de glucosa pase por glucólisis. En **condiciones aeróbicas**, el piruvato es transportado hacia las mitocondrias y pasa por descarboxilación oxidativa a acetil-CoA y después oxidación a CO_2 en el ciclo del ácido cítrico (capítulo 16). Los equivalentes reductores del NADH formado en la glucólisis son captados hacia mitocondrias para oxidación por medio de la lanzadera (*shuttle*) de malato-aspartato o la lanzadera de glicerofosfato (capítulo 13).

LOS TEJIDOS QUE FUNCIONAN EN CONDICIONES HIPÓXICAS PRODUCEN LACTATO

Lo anterior es cierto para el músculo estriado, en particular las fibras blancas, donde el índice de gasto de trabajo y, por ende, la necesidad de formación de ATP, puede exceder el índice al cual se puede captar oxígeno y utilizarlo. La glucólisis en los eritrocitos siempre termina en lactato, porque las reacciones subsiguientes de oxidación de piruvato son mitocondriales, y los eritrocitos carecen de mitocondrias.

Otros tejidos que en circunstancias normales obtienen gran parte de su energía de la glucólisis y producen lactato son el cerebro, el tubo digestivo, la médula renal, la retina y la piel. La producción de lactato también se incrementa en el choque séptico; asimismo, muchos cánceres producen lactato. El hígado, los

riñones y el corazón por lo general captan lactato y lo oxidan, pero lo producen en condiciones de hipoxia.

Cuando la producción de lactato es alta, como en el ejercicio vigoroso, el choque séptico y la caquexia por cáncer, gran parte se utiliza en el hígado para gluconeogénesis (capítulo 19), lo que lleva a un incremento del índice metabólico para proporcionar el ATP y GTP necesarios. El aumento del consumo de oxígeno como resultado de incremento de la oxidación de combustibles metabólicos para proporcionar el ATP y GTP necesarios para la gluconeogénesis se observa como **deuda de oxígeno** después de ejercicio vigoroso.

En algunas circunstancias llega a formarse lactato en el citosol, pero después entra en la mitocondria para ser oxidado hacia piruvato para metabolismo anterógrado. Esto proporciona una vía para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria para la cadena de transporte de electrones además de las lanzaderas de glicerofosfato (figura 13-12) y malato-aspartato (figura 13-13).

LA GLUCÓLISIS ESTÁ REGULADA EN TRES PASOS QUE INVOLUCRAN REACCIONES DESEQUILIBRADAS

Aunque la mayor parte de las reacciones de la glucólisis son reversibles, tres son en gran medida exergónicas y, por ende, deben considerarse irreversibles desde el punto de vista fisiológico. Estas reacciones, catalizadas por la **hexocinasa** (y glucocinasa), **fosfofructocinasa** y **piruvato cinasa**, son los principales sitios de regulación de la glucólisis. La fosfofructocinasa está significativamente inhibida a concentraciones intracelulares normales de ATP; esta inhibición puede aliviarse con rapidez mediante 5' AMP que se forma a medida que empieza a acumularse ADP, lo que señala la necesidad de índice de glucólisis aumentado (capítulo 19). Las células que tienen la capacidad de **gluconeogénesis** (que revierten la vía glucolítica, capítulo 19) tienen diferentes enzimas que catalizan reacciones para revertir estos pasos irreversibles; glucosa 6-fosfatasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa y, para revertir la reacción de la piruvato cinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa. La regulación recíproca de la fosfofructocinasa en la glucólisis, y de la fructosa 1,6-difosfatasa en la gluconeogénesis se comentan en el capítulo 19.

La **fructosa** entra a la glucólisis mediante fosforilación hacia fructosa 1-fosfato, y evita los principales pasos reguladores; de este modo, da por resultado la formación de más piruvato (y acetil-CoA) que el necesario para la formación de ATP. En el hígado y el tejido adiposo, esto lleva a aumento de la lipogénesis y una ingestión alta de fructosa puede ser un factor en la aparición de obesidad.

En los eritrocitos es posible evitar el paso por el primer sitio de formación de ATP en la glucólisis

En los eritrocitos, es factible evitar hasta cierto grado el paso por la reacción catalizada por la **fosfoglicerato cinasa** mediante la reacción de la **bisfosfoglicerato mutasa**, que cataliza la conversión de 1,3-bisfosfoglicerato en 2,3-bisfosfoglicerato, seguida por hidrólisis hacia 3-fosfoglicerato y P_i, catalizada por la **2,3-bisfosfoglicerato fosfatasa** (**figura 17-4**). Esta vía comprende rendimiento neto nulo de ATP por glucólisis, sin embargo, sirve para proporcionar 2,3-bisfosfoglicerato, que se une a la hemoglobina, lo que disminuye su afinidad por el oxígeno y, así, hace que el oxígeno esté disponible con más facilidad para los tejidos (véase capítulo 6).

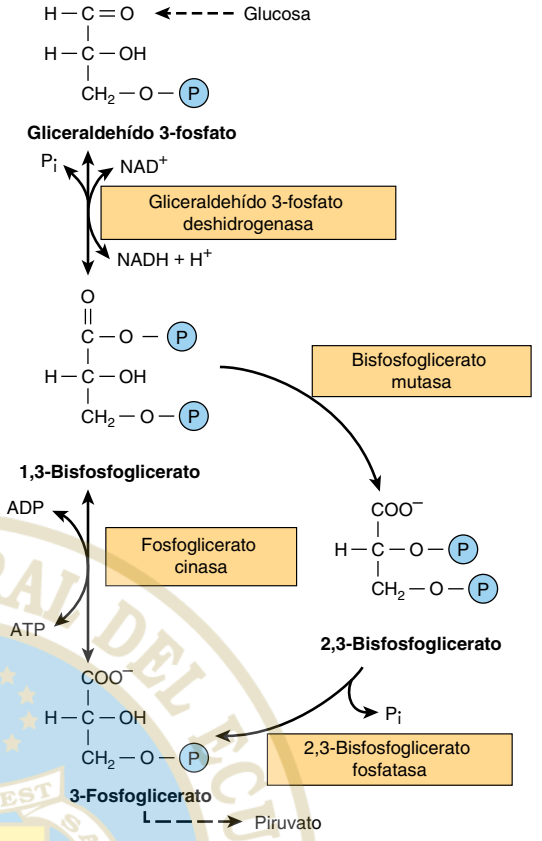


FIGURA 17-4 **Vía del 2,3-bisfosfoglicerato en los eritrocitos.**

LA OXIDACIÓN DEL PIRUVATO HACIA ACETIL-COA ES LA RUTA IRREVERSIBLE DESDE LA GLUCÓLISIS HACIA EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

El piruvato, formado en el citosol, es transportado hacia la mitocondria mediante un simportador *(symporter)* de protón. Dentro de la mitocondria, se descarboxila de manera oxidativa hacia acetil-CoA mediante un complejo de múltiples enzimas relacionado con la membrana mitocondrial interna. Este **complejo de piruvato deshidrogenasa** es análogo al complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa del ciclo del ácido cítrico (capítulo 16). El piruvato es descarboxilado por la **piruvato deshidrogenasa** componente del complejo enzimático hacia un derivado hidroxietilo del anillo tiazol de **tiamina difosfato** unido a enzima que, a su vez, reacciona con lipoamida oxidada, el grupo prostético de la **dihidrolipoil transacetilasa**, para formar acetil lipoamida (**figura 17-5**). La tiamina es la vitamina B_1 (capítulo 44) y, cuando hay deficiencia, el metabolismo de la glucosa está alterado, y hay acidosis láctica y pirúvica importantes (y que en

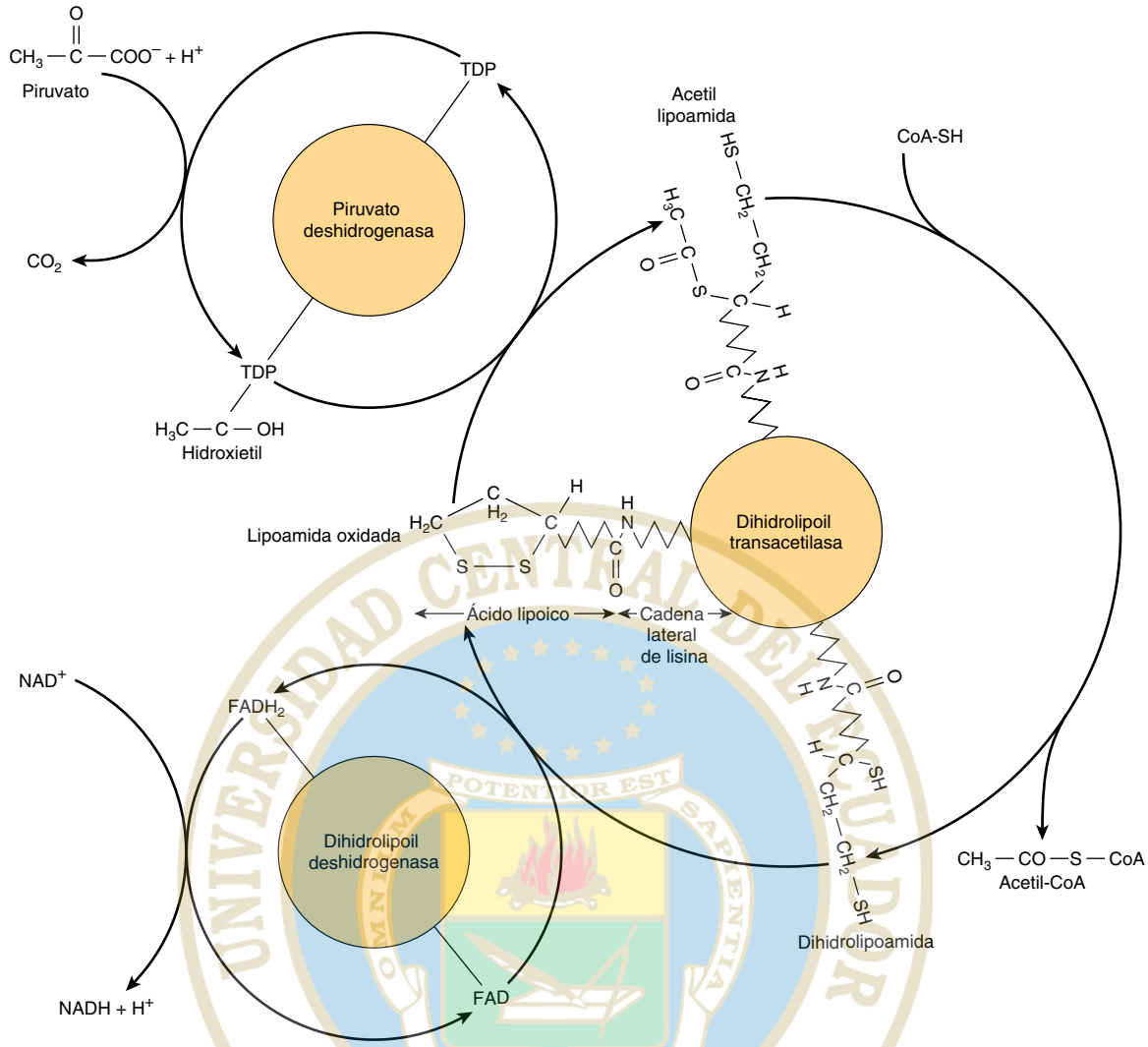


FIGURA 17-5 Descarboxilación oxidativa de piruvato por el complejo de piruvato deshidrogenasa. El ácido lipoico es unido por un enlace amida a un residuo lisina del componente transacetilasa del complejo enzimático. Forma un extremo flexible y largo, que permite que el grupo prostético del ácido lipoico rote de manera secuencial entre los sitios activos de cada una de las enzimas del complejo. (FAD, flavina adenina dinucleótido; NAD^+, nicotinamida adenina dinucleótido; TDP, tiamina difosfato).

potencia ponen en peligro la vida). La acetil lipoamida reacciona con la coenzima A para formar acetil-CoA y lipoamida reducida. La reacción se completa cuando la lipoamida reducida se vuelve a oxidar mediante una flavoproteína, la **dihidrolipoil deshidrogenasa**, que contiene FAD. Por último, la flavoproteína reducida se oxida mediante NAD^+ que, a su vez, transfiere equivalentes reductores a la cadena respiratoria. La reacción es:

$$\text{Piruvato} + NAD^+ + \text{CoA} \rightarrow \text{Acetil-CoA} + NADH + H^+ + CO_2$$

El complejo de piruvato deshidrogenasa consta de varias cadenas polipeptídicas de cada una de las tres enzimas componentes, y los intermediarios no se disocian, sino que permanecen unidos a las enzimas. Ese complejo de enzimas, en el cual los sustratos pasan desde una enzima hacia la siguiente, aumenta el índice de reacción y previene reacciones colaterales, lo que aumenta la eficiencia general.

La piruvato deshidrogenasa está regulada mediante inhibición por producto terminal y modificación covalente

La piruvato deshidrogenasa es inhibida por sus productos, acetil-CoA y NADH (**figura 17-6**). También está regulada por fosforilación (catalizada por una cinasa) de tres residuos serina sobre el componente piruvato deshidrogenasa del complejo de múltiples enzimas, lo que da por resultado decremento de la actividad, y por desfosforilación (catalizada por una fosfatasa) que causa un aumento de la actividad. La cinasa se activa por incrementos de las proporciones [ATP]/[ADP], [acetil-CoA]/[CoA], y [NADH]/[NAD^+]. De este modo, la piruvato deshidrogenasa y, por ende, la glucólisis, son inhibidas cuando se dispone de ATP adecuado (y coenzimas reducidas para la formación de ATP), y también cuando los ácidos grasos se están oxidando. En el ayuno, cuando aumentan las concentraciones de ácido graso libre no

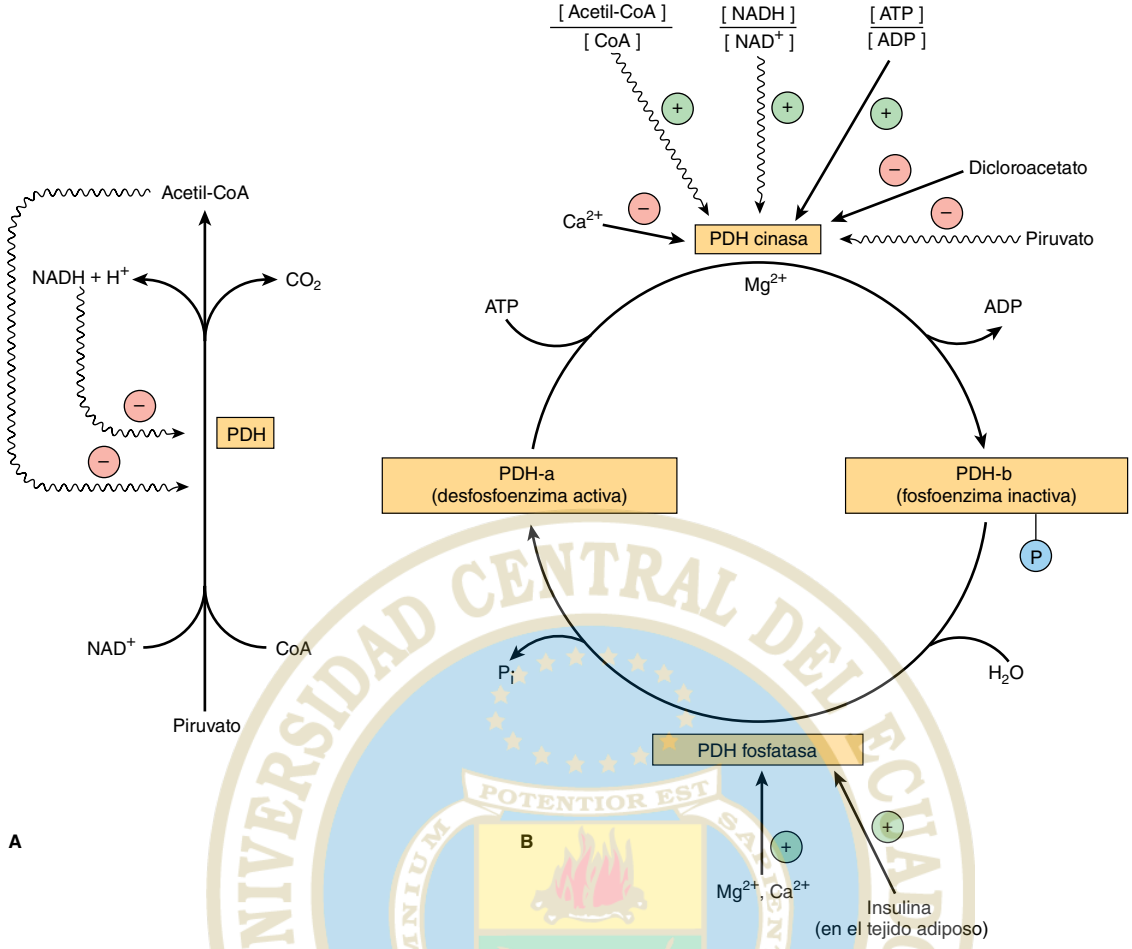


FIGURA 17-6 Regulación de la piruvato deshidrogenasa (PDH). Las flechas con el eje ondulado indican efectos alostéricos. **A)** Regulación por inhibición por producto terminal. **B)** Regulación por interconversión de formas activas e inactivas.

esterificado, hay un decremento de la proporción de la enzima en la forma activa, lo que lleva a una preservación de carbohidrato. En el tejido adiposo, donde la glucosa proporciona acetil-CoA para lipogénesis, la enzima se activa en respuesta a insulina.

ASPECTOS CLÍNICOS

La inhibición del metabolismo del piruvato lleva a acidosis láctica

La arsenita y los iones mercúricos reaccionan con los grupos —SH del ácido lipoico, e inhiben la piruvato deshidrogenasa, como lo hace una **deficiencia de tiamina en la dieta** (capítulo 44), lo que permite que se acumule piruvato. Muchos alcohólicos tienen deficiencia de tiamina (tanto por llevar una dieta inadecuada como porque el alcohol inhibe la absorción de tiamina) y a menudo presentan acidosis pirúvica y láctica que en potencia es mortal. Los pacientes con **deficiencia hereditaria de piruvato deshidrogenasa**, que puede ser el resultado de defectos en uno o más de los componentes del complejo de enzimas, también presentan acidosis láctica, en particular después de una carga de glucosa. Debido a la dependencia del cerebro de la glucosa como un combustible, estos defectos metabólicos por lo general causan alteraciones neurológicas.

La deficiencia hereditaria de aldolasa A y la deficiencia de piruvato cinasa en los eritrocitos causan **anemia hemolítica**. Los pacientes con **deficiencia de fosfofructocinasa muscular** tienen baja capacidad para hacer ejercicio, en particular si están recibiendo dietas con alto contenido de carbohidratos. Al proporcionar lípido como un combustible alternativo, por ejemplo, durante la inanición, cuando los ácidos grasos libres y los cuerpos cetónicos en la sangre están aumentados, la capacidad para desempeñar trabajo mejora.

RESUMEN

- La glucólisis es la vía citosólica de todas las células de mamífero para el metabolismo de la glucosa (o del glucógeno) hacia piruvato y lactato.
- Puede funcionar de manera anaeróbica al regenerar NAD^+ oxidado (que se requiere en la reacción de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa), al reducir piruvato hacia lactato.
- El lactato es el producto terminal de la glucólisis en condiciones anaeróbicas (p. ej., en músculo que está haciendo ejercicio) o, en eritrocitos, cuando no hay mitocondrias para permitir la oxidación adicional de piruvato.
- La glucólisis está regulada por tres enzimas que catalizan reacciones desequilibradas: hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa.

- En los eritrocitos, puede evitarse el paso por el primer sitio en la glucólisis para la generación de ATP, lo que lleva a la formación de 2,3-bisfosfoglicerato, que tiene importancia en el decremento de la afinidad de la hemoglobina por el O_2.
- El piruvato se oxida hacia acetil-CoA mediante un complejo de múltiples enzimas, piruvato deshidrogenasa, que es dependiente del factor derivado de vitamina, difosfato de tiamina.
- Las condiciones que involucran un deterioro del metabolismo del piruvato suelen llevar a acidosis láctica.

REFERENCIAS

Behal RH, Buxton DB, Robertson JG, Olson MS: Regulation of the pyruvate dehydrogenase multienzyme complex. Annu Rev Nutr 1993;13:497.

Boiteux A, Hess B: Design of glycolysis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1981;293:5.

Cairns SP: Lactic acid and exercise performance: culprit or friend? Sports Med 2006;36:279.

Fall PJ, Szerlip HM: Lactic acidosis: from sour milk to septic shock. J Intensive Care Med 2005;20:255.

Fothergill-Gilmore LA: The evolution of the glycolytic pathway. Trends Biochem Sci 1986;11:47.

Gladden LB: Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. J Physiol 2004;558:5.

Gladden LB: A lactatic perspective on metabolism. Med Sci Sports Exerc 2008;40:477.

Kim J-W, Dang CV: Multifaceted roles of glycolytic enzymes. Trends Biochem Sci 2005;30:142.

Lalau JD: Lactic acidosis induced by metformin: incidence, management and prevention. Drug Saf 2010;33:727.

Levy B: Lactate and shock state: the metabolic view. Curr Opin Crit Care 2006;1:315.

Maj MC, Cameron JM, Robinson BH: Pyruvate dehydrogenase phosphatase deficiency: orphan disease or an under-diagnosed condition? Mol Cell Endocrinol 2006;249:1.

Martin E, Rosenthal RE, Fiskum G: Pyruvate dehydrogenase complex: metabolic link to ischemic brain injury and target of oxidative stress. J Neurosci Res 2005;79:240.

Patel KP, O'Brien TW: The spectrum of pyruvate dehydrogenase complex deficiency: clinical, biochemical and genetic features in 371 patients. Mol Genet Metab 2012;105:34.

Patel MS, Korotchkina LG: Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex. Biochem Soc Trans 2006;34:217.

Philp A, Macdonald AL, Watt PW: Lactate—a signal coordinating cell and systemic function. J Exp Biol 2005;208:4561.

Rider MH, Bertrand L, Vertommen D, *et al*: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. Biochem J 2004;381:561.

Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D: Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. Am J Physiol 2004;287:R502.

Sugden MC, Holness MJ: Mechanisms underlying regulation of the expression and activities of the mammalian pyruvate dehydrogenase kinases. Arch Physiol Biochem 2006;112:139.

Wasserman DH: Regulation of glucose fluxes during exercise in the postabsorptive state. Annu Rev Physiol 1995;57:191.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POSSIBILIUM SCIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 18

Metabolismo del glucógeno

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la estructura del glucógeno y su importancia como una reserva de carbohidrato.
- Describir la síntesis de glucógeno y la desintegración del mismo, y la manera en que los procesos son regulados en respuesta a la acción de hormonas.
- Describir los diversos tipos de enfermedades por depósito de glucógeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El glucógeno es el principal carbohidrato de almacenamiento en animales; corresponde al almidón en los vegetales; es un polímero ramificado de α-D-glucosa (figura 15-12). Se encuentra sobre todo en hígado y músculos, con cantidades modestas en el cerebro. Aunque el contenido de glucógeno en hígado es mayor que en músculos, dado que la masa muscular del cuerpo es bastante mayor que la del hígado, alrededor de tres cuartas partes del glucógeno corporal total están en el músculo (**cuadro 18-1**).

El glucógeno muscular proporciona una fuente fácilmente disponible de glucosa 1-fosfato para glucólisis dentro del músculo en sí. El glucógeno hepático funciona para almacenar glucosa y exportarla para mantener la concentración de **glucosa en sangre** durante el estado de ayuno. La concentración de glucógeno en el hígado es de alrededor de 450 mol/L equivalentes de glucosa después de una comida; disminuye a alrededor de 200 mmol/L tras ayuno de toda la noche; luego de 12 a 18 horas de ayuno, el glucógeno hepático está agotado casi en su totalidad. Si bien el glucógeno hepático no produce de manera directa glucosa libre (porque el músculo carece de glucosa 6-fosfatasa), el piruvato formado mediante glucólisis en el músculo puede pasar por transaminación hacia alanina, que se exporta desde el músculo y se usa para gluconeogénesis en el hígado (figura 19-4). Las **enfermedades por depósito de glucógeno** son un grupo de trastornos hereditarios que se caracterizan por movilización deficiente de glucógeno o depósito de formas anormales del mismo, lo que lleva a daño hepático y debilidad muscular; algunas de estas enfermedades dan por resultado muerte temprana.

La estructura muy ramificada del glucógeno (figura 15-12) proporciona un gran número de sitios para glucogenolisis, lo que permite liberación rápida de glucosa 1-fosfato para actividad muscular. Los atletas de resistencia requieren liberación más lenta y más sostenida de glucosa 1-fosfato. La formación de puntos de ramificación en el glucógeno es más lenta que la adición de unidades de glucosa a una cadena lineal, y algunos atletas de resistencia practican **carga de carbohidratos**: hacer ejercicio hasta quedar exhausto (cuando el glucógeno muscular está agotado en su mayor parte), seguido por una comida con alto contenido de carbohidratos, lo que da por resultado síntesis rápida de glucógeno, con menos puntos de ramificación que lo normal.

LA GLUCOGÉNESIS OCURRE DE MANERA PRINCIPAL EN MÚSCULO E HÍGADO

La biosíntesis de glucógeno implica UDP-glucosa

Al igual que en la glucólisis, la glucosa se fosforila hacia glucosa 6-fosfato, lo cual es catalizado por la **hexocinasa** en el músculo y la **glucocinasa** en el hígado (**figura 18-1**). La glucosa 6-fosfato se isomeriza hacia glucosa 1-fosfato mediante la **fosfoglucomutasa**. La enzima en sí está fosforilada y el grupo fosfato participa en una reacción reversible en la cual la glucosa 1,6-bisfosfato es un intermediario. A continuación, la glucosa 1-fosfato reacciona con uridina trifosfato (UTP) para formar el nucleótido activo **uridina difosfato glucosa (UDPGlc)** y pirofosfato (**figura 18-2**), catalizado por la **UDPGlc pirofosforilasa.** La reacción procede en la dirección de la formación de UDPGlc porque la **pirofosfatasa** cataliza la hidrólisis de pirofosfato hacia 2 × fosfato, de modo que se elimina uno de los productos de la reacción. La UDPGlc pirofosforilasa tiene una K_m baja para la glucosa 1-fosfato, y está presente en cantidades relativamente grandes, de modo que no es un paso regulador en la síntesis de glucógeno.

Los pasos iniciales de la síntesis de glucógeno involucran a la **glucogenina**, una proteína de 37 kDa que es glucosilada en un

CUADRO 18-1 Almacenamiento de carbohidratos en un ser humano de 70 kg de peso

	Porcentaje de peso del tejido	Peso del tejido	Contenido corporal (g)
Glucógeno hepático	5.0	1.8 kg	90
Glucógeno muscular	0.7	35 kg	245
Glucosa extracelular	0.1	10 L	10

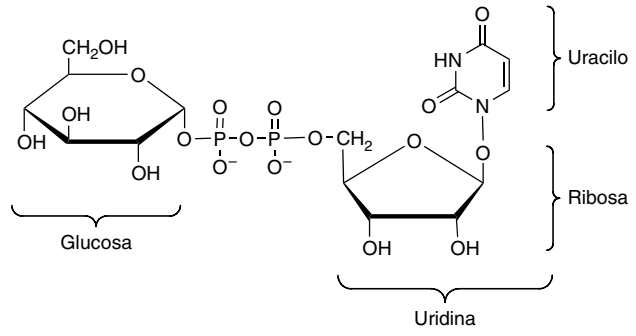


FIGURA 18-2 Uridina difosfato glucosa (UDPGlc).

residuo tirosina específico por UDPGlc. La glucogenina cataliza la transferencia de otros siete residuos de glucosa desde UDPGlc, en enlace 1 → 4, para formar un **cebador de glucógeno** que es el sustrato para la glucógeno sintasa. En el músculo la glucogenina permanece en el centro del gránulo de glucógeno (figura 15-12). La **glucógeno sintasa** cataliza la formación de un enlace glucosilo entre el C-1 de la glucosa del UDPGlc y el C-4 de un residuo de glucosa terminal de glucógeno, lo que libera difosfato de uridina (UDP). La adición de un residuo de glucosa a una cadena de glucógeno preexistente, o "cebador", ocurre en el extremo externo, no reductor, de la molécula, de modo que las ramas de la molécula de glucógeno quedan alargadas conforme se forman enlaces 1 → 4 sucesivos (**figura 18-3**).

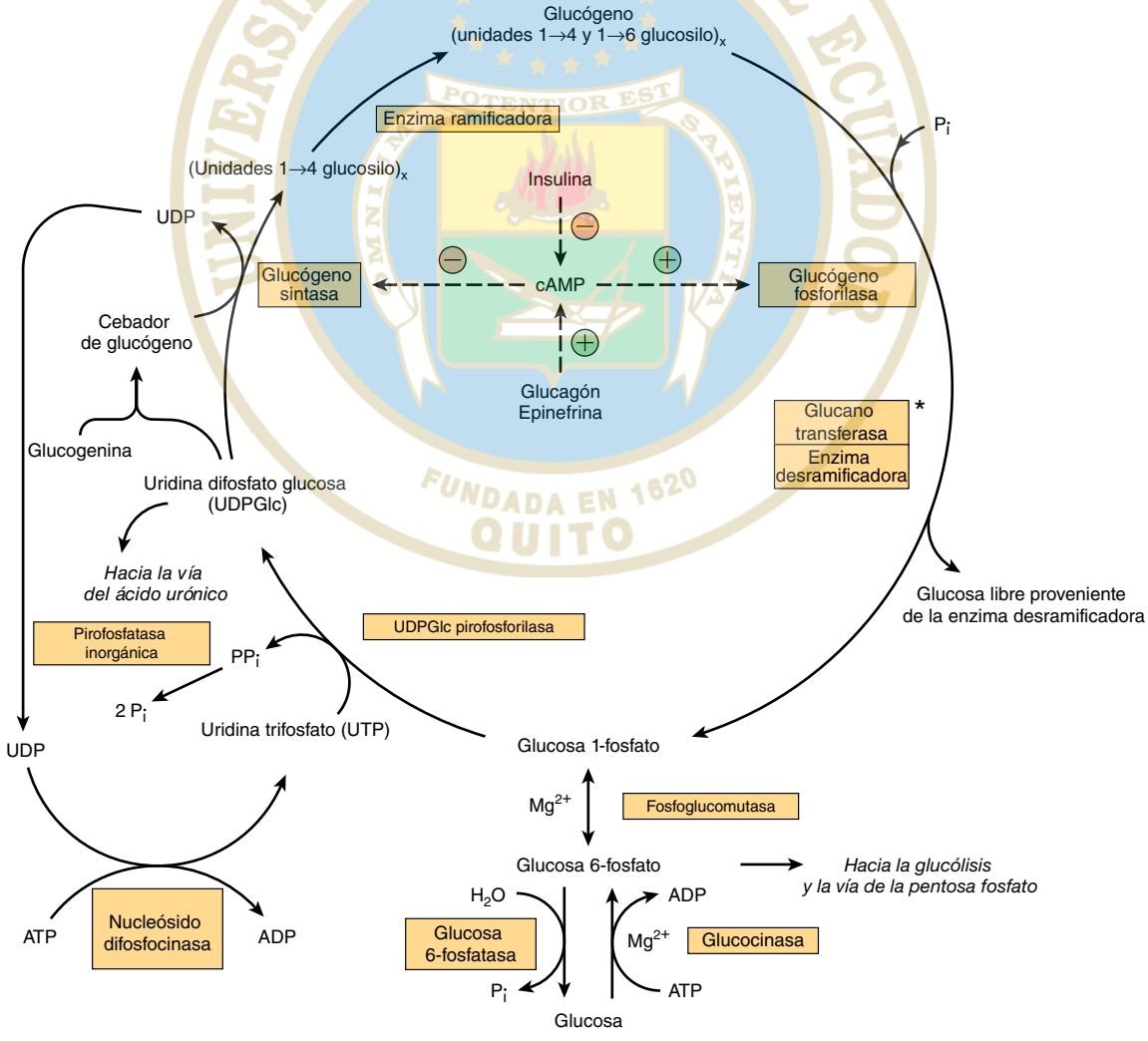


FIGURA 18-1 Vías de la glucogénesis y de la glucogenolisis en el hígado. (⊕, estimulación; ⊖, inhibición). La insulina disminuye la concentración de cAMP sólo después de que ha sido aumentada por el glucagón o epinefrina; es decir, antagoniza su acción. El glucagón es activo en el músculo cardíaco, pero no en el músculo esquelético.* La glucano transferasa y la enzima desramificadora parecen ser dos actividades separadas de la misma enzima.

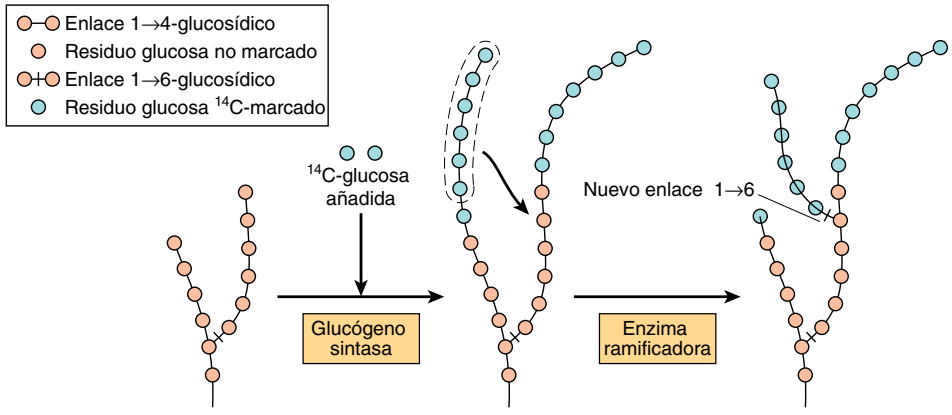


FIGURA 18-3 La biosíntesis de glucógeno. El mecanismo de ramificación según se revela por alimentación con glucosa ^{14}C-marcada, y examen del glucógeno hepático a intervalos.

La ramificación comprende el desprendimiento de cadenas de glucógeno existentes

Cuando la cadena en crecimiento tiene al menos 11 residuos de glucosa de largo, la **enzima ramificadora** transfiere una parte de la cadena 1 → 4 (por lo menos seis residuos de glucosa) hacia una cadena vecina para formar un enlace 1 → 6, lo que establece un **punto de ramificación**. Las ramas crecen mediante adiciones extra de unidades 1 → 4-glucosilo y ramificación adicional.

LA GLUCOGENOLISIS NO ES EL INVERSO DE LA GLUCOGÉNESIS, SINO QUE ES UNA VÍA SEPARADA

La **glucógeno fosforilasa** cataliza el paso limitador en la glucogenolisis al catalizar la división fosforolítica (fosforolisis; de hidrólisis) de los enlaces 1 → 4 del glucógeno para dar glucosa 1-fosfato (**figura 18-4**). Hay distintas isoenzimas de la glucógeno fosforilasa en el hígado, el músculo y el cerebro, codificadas por genes separados. La glucógeno fosforilasa requiere fosfato de piridoxal (capítulo 44) como su coenzima. Al contrario de las reacciones del metabolismo de aminoácidos (capítulo 28), en las cuales el grupo aldehído de la coenzima es el grupo reactivo, en la fosforilasa es el grupo fosfato el que tiene actividad catalítica.

Los residuos glucosilo terminales de las cadenas más externas de la molécula de glucógeno se eliminan de manera secuencial hasta que quedan alrededor de cuatro residuos glucosa a uno u otro lado de una rama 1 → 6 (figura 18-4). La **enzima desramificadora** tiene dos sitios catalíticos separados en una cadena polipeptídica única. Uno es una glucano transferasa que transfiere una unidad de trisacárido de una rama a la otra, lo que expone el punto de ramificación 1 → 6. El otro es una 1,6-glucosidasa que cataliza la hidrólisis del enlace de glucógeno 1 → 6 para liberar glucosa libre. Entonces puede proceder acción adicional de fosforilasa. La acción combinada de la fosforilasa y estas otras enzimas lleva a la desintegración completa del glucógeno.

La reacción catalizada por la fosfoglucomutasa es reversible, de modo que puede formarse glucosa 6-fosfato a partir de glucosa 1-fosfato. En **hígado**, no así en el músculo, la **glucosa 6-fosfatasa** cataliza la hidrólisis de la glucosa 6-fosfato, lo que da glucosa que se exporta, y lleva a un incremento de la concentración de glucosa en la sangre. La glucosa 6-fosfatasa está en la luz del retículo endoplásmico liso, y los defectos genéticos del transportador de glucosa 6-fosfato pueden causar una variante de la enfermedad por depósito de glucógeno tipo I (**cuadro 18-2**).

Los gránulos de glucógeno también pueden ser fagocitados por **lisosomas**, donde la maltasa ácida cataliza la hidrólisis de glucógeno hacia glucosa. Esto puede ser en especial importante en la homeostasis de la glucosa en recién nacidos, pero la falta genética de maltosa ácida lisosomal lleva a enfermedad por depósito de glucógeno tipo II (enfermedad de Pompe, cuadro 18-2). El catabolismo lisosomal del glucógeno está bajo control hormonal.

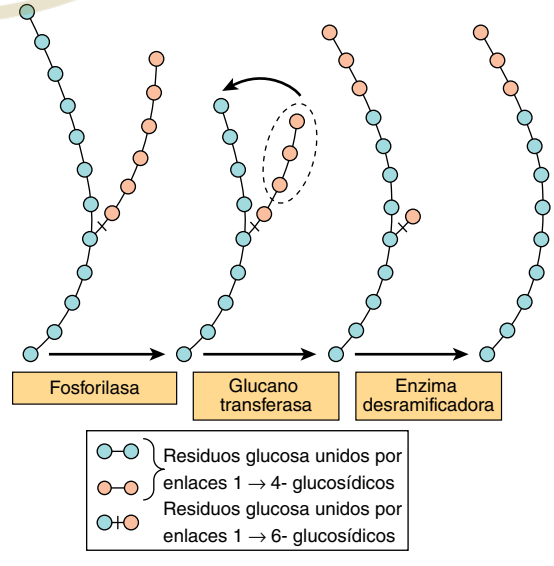


FIGURA 18-4 Pasos en la glucogenolisis.

CUADRO 18-2 Enfermedades por depósito de glucógeno

Tipo	Nombre	Enzima deficiente	Datos clínicos
0	—	Glucógeno sintasa	Hipoglucemia; hipercetonemia; muerte temprana
Ia	Enfermedad de Von Gierke	Glucosa 6-fosfatasa	Acumulación de glucógeno en el hígado y en células de los túbulos renales; hipoglucemia; acidemia láctica; cetosis; hiperlipidemia
Ib	—	Transportador de glucosa 6-fosfato del retículo endoplasmático	Como en el tipo Ia; neutropenia y función de neutrófilos alterada que llevan a infecciones recurrentes
II	Enfermedad de Pompe	$\alpha 1 \rightarrow 4$ y $\alpha 1 \rightarrow 6$ glucosidasa (maltosa ácida) lisosomal	Acumulación de glucógeno en lisosomas: variante de inicio juvenil, hipotonía muscular, muerte por insuficiencia cardíaca hacia los dos años de edad; variante de inicio en el adulto, distrofia muscular
IIIa	Dextrinosis límite, enfermedad de Forbe o de Cori	Enzima desramificadora hepática y muscular	Hipoglucemia en ayuno; hepatomegalia durante la lactancia; acumulación de polisacárido ramificado característico (dextrina límite); debilidad muscular
IIIb	Dextrinosis límite	Enzima desramificadora hepática	Como en el tipo IIIa, pero sin debilidad muscular
IV	Amilopectinosis, enfermedad de Andersen	Enzima ramificadora	Hepatosplenomegalia; acumulación de polisacárido con pocos puntos de ramificación; muerte por insuficiencia cardíaca o hepática antes de los cinco años de edad
V	Deficiencia de miofosforilasa, síndrome de McArdle	Fosforilasa muscular	Poca tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después de ejercicio
VI	Enfermedad de Hers	Fosforilasa hepática	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado; hipoglucemia leve; por lo general buen pronóstico
VII	Enfermedad de Tarui	Fosfofructocinasa 1 muscular y de eritrocitos	Poca tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después de ejercicio; anemia hemolítica
VIII		Fosforilasa cinasa hepática	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado; hipoglucemia leve; por lo general buen pronóstico
IX		Fosforilasa cinasa hepática y muscular	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado y el músculo; hipoglucemia leve; por lo general buen pronóstico
X		Proteína cinasa dependiente de cAMP	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado

EL AMP CÍCLICO INTEGRA LA REGULACIÓN DE LA GLUCOGENOLISIS Y LA GLUCOGÉNESIS

Las principales enzimas que controlan el metabolismo del glucógeno —glucógeno fosforilasa y glucógeno sintasa— están reguladas en direcciones opuestas por mecanismos alostéricos y modificación covalente por fosforilación y desfosforilación reversibles de proteína enzima en respuesta a la acción hormonal (capítulo 9). La fosforilación de la glucógeno fosforilasa aumenta su actividad; la fosforilación de la glucógeno sintasa reduce su actividad.

La fosforilación está aumentada en respuesta a monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) (**figura 18-5**) formado a partir del ATP mediante la **adenilil ciclasa** en la superficie interna de membranas celulares en respuesta a hormonas como **epinefrina (adrenalina), norepinefrina (noradrenalina)** y **glucagón**. La **fosfodiesterasa** hidroliza al cAMP y así termina la acción de hormona; en el hígado la insulina aumenta la actividad de la fosfodiesterasa.

La regulación de la glucógeno fosforilasa difiere en hígado y músculo

La función del glucógeno en el hígado es proporcionar glucosa libre para exportación a fin de mantener la concentración de glucosa en la sangre, y en el músculo es proporcionar una fuente de glucosa 6-fosfato para glucólisis en respuesta a la necesidad de ATP para la contracción muscular. En ambos tejidos, la enzima es activada por fosforilación catalizada por la fosforilasa cinasa (para dar fosforilasa a) y desactivada por desfosforilación catalizada por la fosfoproteína fosfatasa (para dar fosforilasa b), en respuesta a señales hormonales y de otros tipos.

Hay anulación instantánea de este control hormonal. La fosforilasa a activa en ambos tejidos es inhibida de manera alostérica por el ATP y la glucosa 6-fosfato; en el hígado, no así en el músculo, la glucosa libre también es un inhibidor. La fosforilasa muscular difiere de la isoenzima hepática por cuanto tiene un sitio de unión para 5' AMP (figura 18-5), que actúa como un activador alostérico de la forma b desfosforilada (inactiva) de la enzima. El 5' AMP actúa como una potente señal del estado

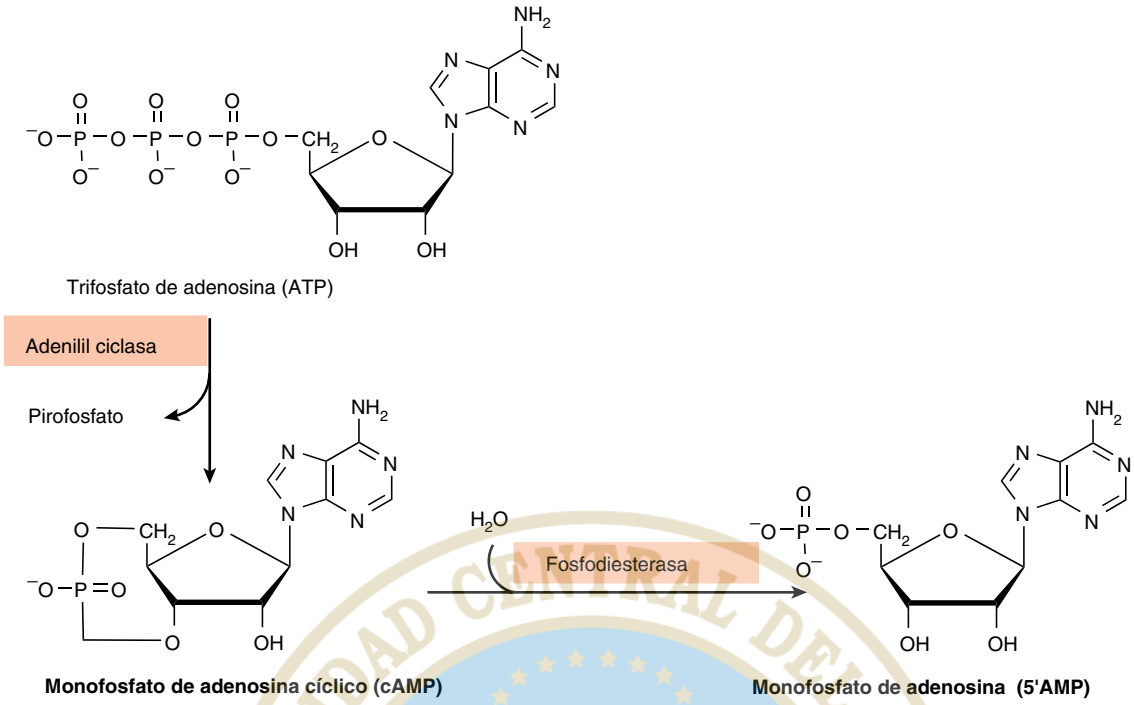


FIGURA 18-5 **La formación e hidrólisis del AMP cíclico (ácido 3′,5′-adenílico, cAMP).**

de energía de la célula muscular; se forma a medida que la concentración de ADP se incrementa (lo que indica la necesidad de metabolismo de sustrato aumentado para permitir la formación de ATP), como resultado de la reacción de adenilato cinasa: 2 × ADP ↔ ATP + 5' AMP.

EL cAMP ACTIVA LA GLUCÓGENO FOSFORILASA

La fosforilasa cinasa es activada en respuesta al cAMP (**figura 18-6**). El incremento de la concentración de cAMP activa a la **proteína cinasa dependiente de cAMP**, que cataliza la fosforilación por ATP de **fosforilasa cinasa b** inactiva hacia **fosforilasa cinasa a** activa que, a su vez, fosforila a la fosforilasa b hacia fosforilasa a. En el hígado, el cAMP se forma en respuesta a glucagón, que se secreta en respuesta a disminución de la glucosa en la sangre. El músculo es insensible al glucagón; en el músculo, la señal para el aumento de la formación de cAMP es la acción de la norepinefrina, que se secreta en respuesta a miedo o susto, cuando hay necesidad de incremento de la glucogenolisis para permitir actividad muscular rápida.

El Ca^{2+} sincroniza la activación de la glucógeno fosforilasa con la contracción muscular

La glucogenolisis en el músculo aumenta varios cientos de veces al principio de la contracción; la misma señal (aumento de la concentración de ion Ca^{2+} citosólico) es la causa del inicio tanto de contracción como de glucogenolisis. La fosforilasa cinasa muscular, que activa a la glucógeno fosforilasa, es un tetrámero de cuatro subunidades, α, β, γ y δ. Las subunidades α y β contienen residuos serina que son fosforilados por la proteína cinasa dependiente de cAMP. La subunidad δ es idéntica a la proteína de unión a Ca^{2+} **calmodulina** (capítulo 42), y se une a cuatro Ca^{2+}. La unión de Ca^{2+} activa el sitio catalítico de la subunidad γ incluso mientras la enzima se encuentra en estado b desfosforilado; la forma fosforilada a sólo está por completo activada en presencia de concentraciones altas de Ca^{2+}.

La glucogenolisis en el hígado puede ser independiente de cAMP

En el hígado, hay activación independiente de cAMP de la glucogenolisis en respuesta a estimulación de receptores α_1 **adrenérgicos** por epinefrina y norepinefrina. Esto comprende la movilización de Ca^{2+} hacia el citosol, seguida por estimulación de una **fosforilasa cinasa sensible a Ca^{2+}/calmodulina**. La glucogenolisis independiente de cAMP también es activada por vasopresina, oxitocina y angiotensina II que actúan por medio de la vía del calcio o del fosfatidilinositol bisfosfato (figura 42-10).

La proteína fosfatasa-1 desactiva a la fosforilasa de glucógeno

La **proteína fosfatasa-1** desfosforila y desactiva tanto a la fosforilasa a como la fosforilasa cinasa a. La proteína fosfatasa-1 es inhibida por una proteína, **inhibidor-1**, que sólo se activa después de que la proteína cinasa dependiente de cAMP la ha fosforilado. De este modo, el cAMP controla tanto la activación como la desactivación de la fosforilasa (figura 18-6). La **insulina** refuerza este efecto al inhibir la activación de la fosforilasa b. Hace esto de manera indirecta al aumentar la captación de glucosa, lo que lleva a incremento de la formación de glucosa 6-fosfato, que es un inhibidor de la fosforilasa cinasa.

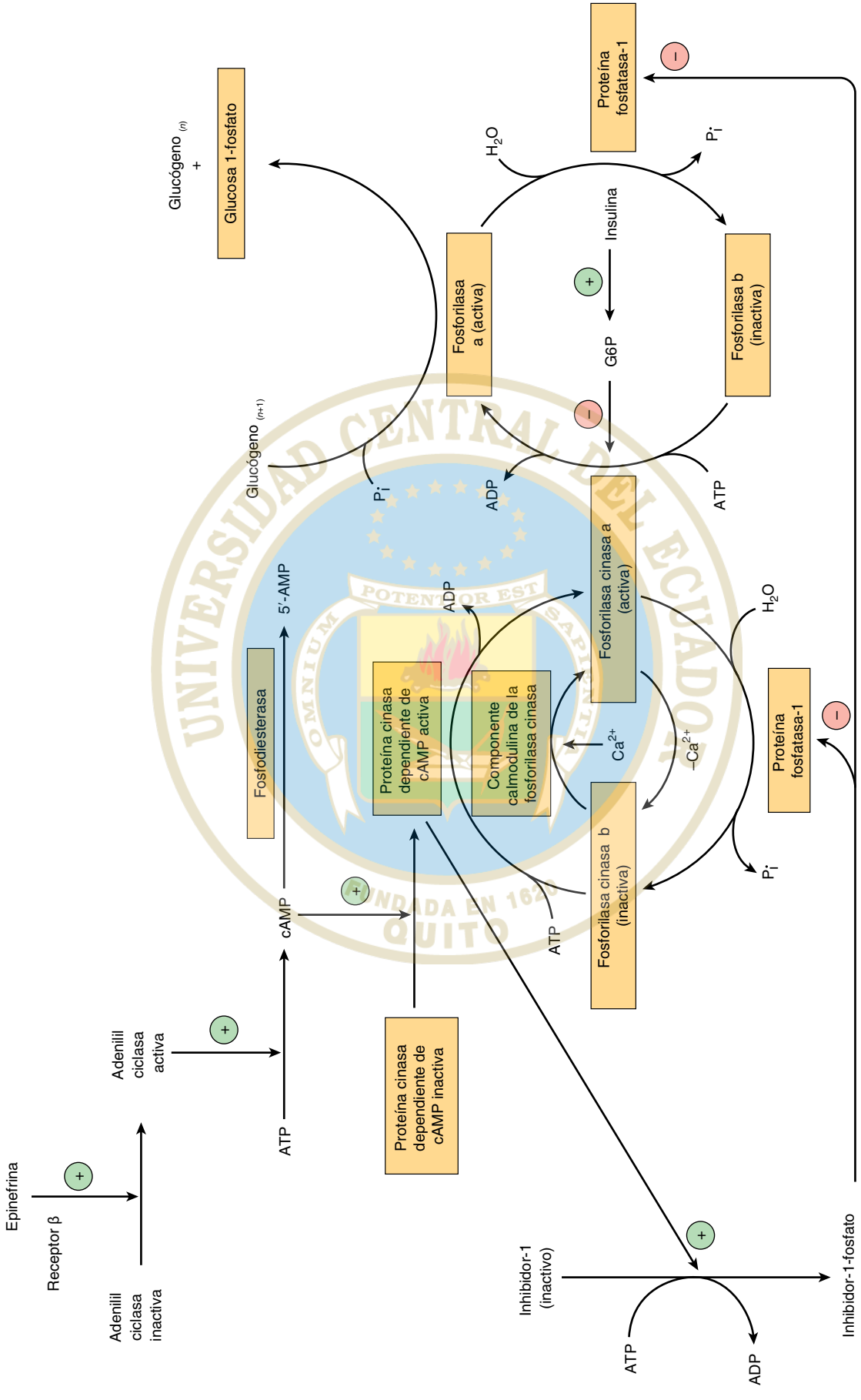


FIGURA 18-6 **Control de la fosforilasa en el músculo.** La secuencia de reacciones ordenadas como cascada permite la amplificación de la señal hormonal en cada paso. (G6P, glucosa 6-fosfato; *n*, número de residuos de glucosa).

Las acciones de la glucógeno sintasa y fosforilasa están reguladas de manera recíproca

Hay diferentes isoenzimas de la glucógeno sintasa en el hígado, el músculo y el cerebro. Al igual que la fosforilasa, la glucógeno sintasa existe en estados tanto fosforilado como no fosforilado, y el efecto de la fosforilación es el inverso de lo que se observa en la fosforilasa (**figura 18-7**). La **glucógeno sintasa a** activa es desfosforilada, y la **glucógeno sintasa b** inactiva es fosforilada.

Seis proteína cinasas diferentes actúan sobre la glucógeno sintasa, y hay al menos nueve residuos serina diferentes en la enzima que pueden ser fosforilados. Dos de las proteína cinasas son dependientes de Ca^{2+}/calmodulina (una de éstas es la fosforilasa cinasa). Otra cinasa es la proteína cinasa dependiente de cAMP, que permite que la acción hormonal mediada por cAMP inhiba la síntesis de glucógeno de manera sincrónica con la activación de la glucogenolisis. La insulina también promueve la glucogénesis en el músculo al mismo tiempo que inhibe la glucogenolisis al aumentar la concentración de glucosa 6-fosfato, que estimula la desfosforilación y activación de la glucógeno sintasa. La proteína fosfatasa-1, que está bajo el control de la proteína cinasa dependiente de cAMP, desfosforila a la glucógeno sintasa b.

EL METABOLISMO ES REGULADO POR EL EQUILIBRIO DE LAS ACCIONES ENTRE LA GLUCÓGENO SINTASA Y LA FOSFORILASA

Al mismo tiempo que la fosforilasa es activada por un aumento de la concentración de cAMP (por medio de la fosforilasa cinasa), la glucógeno sintasa es convertida en la forma inactiva; ambos efectos están mediados por la **proteína cinasa dependiente de cAMP** (**figura 18-8**). De este modo, la inhibición de la glucogenolisis aumenta la glucogénesis neta, y la inhibición de la glucogénesis aumenta la glucogenolisis neta. Asimismo, la desfosforilación de la fosforilasa a, fosforilasa cinasa y glucógeno sintasa b es catalizada por una enzima única con especificidad amplia, la **proteína fosfatasa-1**. A su vez, esta última es inhibida por la proteína cinasa dependiente de cAMP por medio del inhibidor-1. De este modo, la glucogenolisis puede terminar, y la glucogénesis puede ser esti-

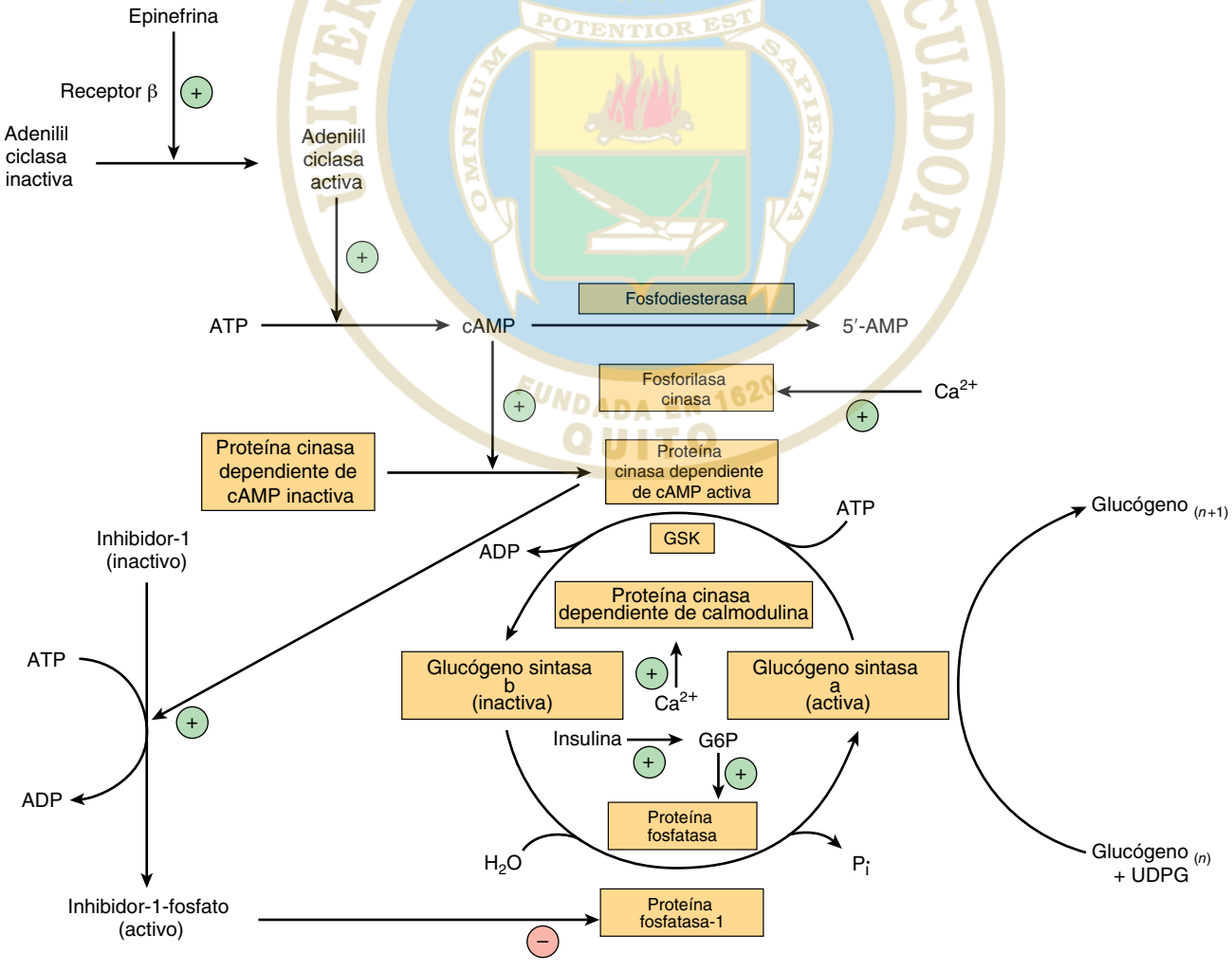


FIGURA 18-7 Control de la glucógeno sintasa en el músculo. (GSK, glucógeno sintasa cinasa; G6P, glucosa 6-fosfato; *n*, número de residuos de glucosa).

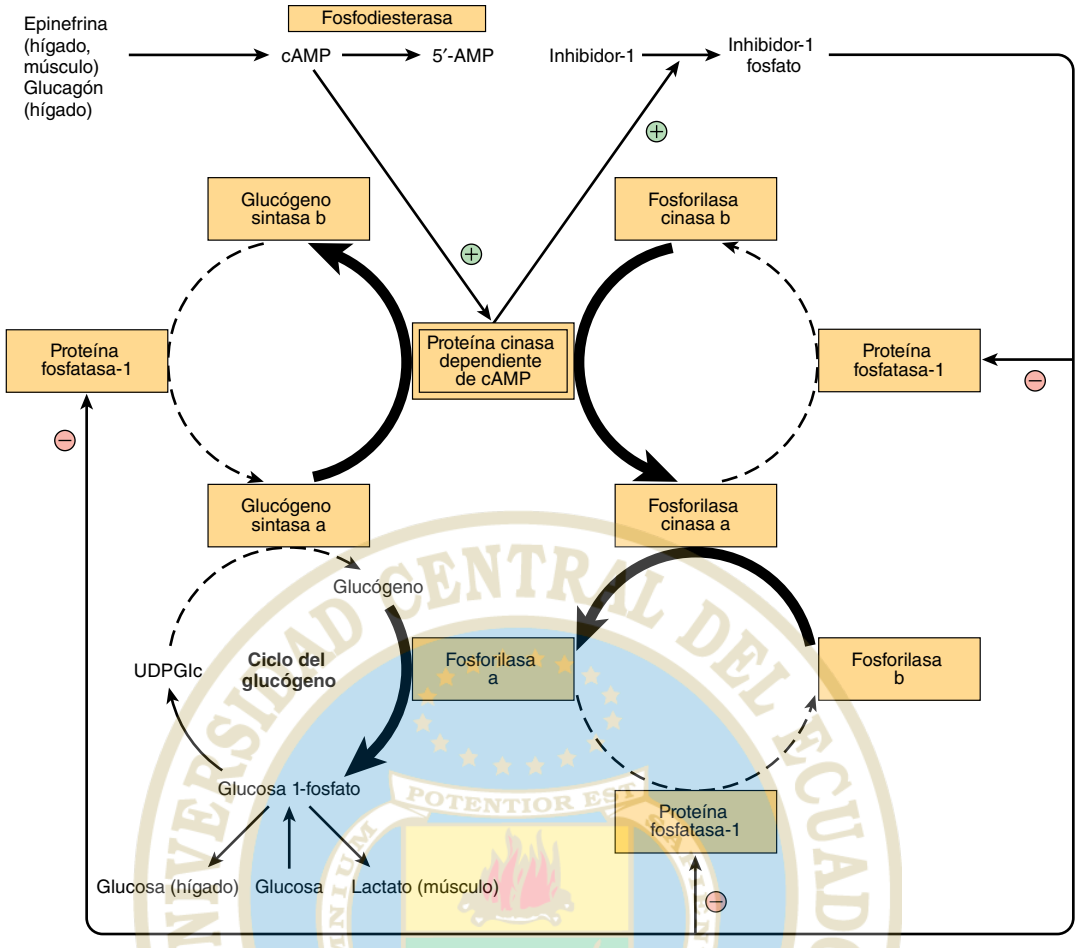


FIGURA 18-8 Control coordinado de la glucogenolisis y la glucogénesis por la proteína cinasa dependiente de cAMP. Las reacciones que llevan a la glucogenolisis como resultado de un incremento de la concentración de cAMP se muestran con flechas gruesas, y las que son inhibidas por la activación de la proteína fosfatasa-1, con flechas discontinuas. Ocurre lo contrario cuando la concentración de cAMP disminuye como resultado de actividad de fosfodiesterasa, lo que lleva a glucogénesis.

mulada, o viceversa, de manera sincrónica, porque ambos procesos son dependientes de la actividad de la proteína cinasa dependiente de cAMP. Cinasas y fosfatasas separadas pueden fosforilar de manera reversible en más de un sitio tanto la fosforilasa cinasa como la glucógeno sintasa. Estas fosforilaciones secundarias modifican la sensibilidad de los sitios primarios a la fosforilación y desfosforilación **(fosforilación de múltiples sitios)**. Asimismo, permiten que la insulina, por medio de un incremento de la glucosa 6-fosfato, tenga efectos que actúan de manera recíproca a los del cAMP (figuras 18-6 y 18-7).

ASPECTOS CLÍNICOS

Las enfermedades por depósito de glucógeno son hereditarias

"Enfermedad por depósito de glucógeno" es un término genérico empleado para describir un grupo de trastornos hereditarios caracterizados por depósito de un tipo o cantidad anormal de glucógeno en los tejidos, o fracaso de la movilización de glucógeno. Las principales enfermedades se resumen en el cuadro 18-2.

RESUMEN

- El glucógeno representa el principal carbohidrato de almacenamiento en el cuerpo, sobre todo en el hígado y el músculo.
- En el hígado, su importante función es proporcionar glucosa para tejidos extrahepáticos. En el músculo, sirve sobre todo como una fuente fácil de combustible metabólico para uso en el músculo. El músculo carece de glucosa 6-fosfatasa y no puede liberar la glucosa libre a partir del glucógeno.
- El glucógeno se sintetiza a partir de la glucosa mediante la vía de la glucogénesis. Se desintegra mediante una vía separada, la glucogenolisis.
- El cAMP integra la regulación de la glucogenolisis y la glucogénesis mediante promover la activación de la fosforilasa y la inhibición de la glucógeno sintasa en forma simultánea. La insulina actúa de manera recíproca al inhibir la glucogenolisis y estimular la glucogénesis.
- Las deficiencias hereditarias de las enzimas del metabolismo del glucógeno tanto en el hígado como en el músculo causan enfermedades por depósito de glucógeno.

REFERENCIAS

Alanso MD, Lomako J, Lomako WM, *et al*: A new look at the biogenesis of glycogen. FASEB J 1995;9:1126.

Bollen M, Keppens S, Stalmans W: Specific features of glycogen metabolism in the liver. Biochem J 1998;336:19.

DiMauro S, Spiegel R: Progress and problems in muscle glycogenoses. Acta Myol 2011;30:96.

Ferrer JC, Favre C, Gomis RR, *et al*: Control of glycogen deposition. FEBS Lett 2003;546:127-132.

Forde JE, Dale TC: Glycogen synthase kinase 3: a key regulator of cellular fate. Cell Mol Life Sci 2007;64:1930.

Gazzerro E, Andreu AL: Neuromuscular disorders of glycogen metabolism. Curr Neurol Neurosci Rep 2013;13:333.

Graham TE, Yuan Z, Hill AK, *et al*: The regulation of muscle glycogen: the granule and its proteins. Acta Physiol (Oxf) 2010;199:489.

Greenberg CC, Jurczak MJ, Danos AM, *et al*: Glycogen branches out: new perspectives on the role of glycogen metabolism in the integration of metabolic pathways. Am J Physiol Endocrinol Metab 2006;291:E1.

Jensen J, Lai YC: Regulation of muscle glycogen synthase phosphorylation and kinetic properties by insulin, exercise, adrenaline and role in insulin resistance. Arch Physiol Biochem 2009;115:13.

Jensen TE, Richter EA: Regulation of glucose and glycogen metabolism during and after exercise. J Physiol 2012;590:1069.

McGarry JD, Kuwajima M, Newgard CB, *et al*: From dietary glucose to liver glycogen: the full circle round. Annu Rev Nutr 1987;7:51.

Meléndez-Hevia E, Waddell TG, Shelton ED: Optimization of molecular design in the evolution of metabolism: the glycogen molecule. Biochem J 1993;295:477.

Ozen H: Glycogen storage diseases: new perspectives. World J Gastroenterol 2007;13:2541.

Palm DC, Rohwer JM: Regulation of glycogen synthase from mammalian skeletal muscle—a unifying view of allosteric and covalent regulation. FEBS J 2013;280:2.

Philp A, Hargreaves M: More than a store: regulatory roles for glycogen in skeletal muscle adaptation to exercise. Am J Physiol Endocrinol Metab 2012;302:E1343.

Radziuk J, Pye S: Hepatic glucose uptake, gluconeogenesis and the regulation of glycogen synthesis. Diabetes Metab Res Rev 2001;17(4):250.

Roach PJ, Depaoli-Roach AA: Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. Biochem J 2012;441:763.

Roden M, Bernroider E: Hepatic glucose metabolism in humans—its role in health and disease. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2003;17:365.

Rybicka KK: Glycosomes—the organelles of glycogen metabolism. Tissue Cell 1996;28:254.

Shearer J, Graham TE: New perspectives on the storage and organization of muscle glycogen. Can J Appl Physiol 2002;27:179.

Shin YS: Glycogen storage disease: clinical, biochemical, and molecular heterogeneity. Semin Pediatr Neurol 2006;13:115.

Wolfsdorf JI, Holm IA: Glycogen storage diseases. Phenotypic, genetic, and biochemical characteristics, and therapy. Endocrinol Metab Clin North Am 1999;28:801.

Yeaman SJ, Armstrong JL, Bonavaud SM, *et al*: Regulation of glycogen synthesis in human muscle cells. Biochem Soc Trans 2001;29:537.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POTENTIOR EST SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 19

Gluconeogénesis y control de la glucosa en sangre

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar la importancia de la gluconeogénesis en la homeostasis de la glucosa.
- Describir la vía de la gluconeogénesis, la manera en que se evita el paso por las enzimas irreversibles de la glucólisis, y cómo la glucólisis y la gluconeogénesis están reguladas de manera recíproca.
- Explicar cómo la concentración plasmática de glucosa se mantiene dentro de límites estrechos en los estados posprandial y de ayuno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de glucosa o de glucógeno a partir de precursores que no son carbohidratos. Los principales sustratos son los aminoácidos glucogénicos (capítulo 29), lactato, glicerol y propionato. El hígado y los riñones son los principales tejidos gluconeogénicos; los riñones pueden contribuir con hasta 40% de la síntesis de glucosa total en el estado de ayuno, y con más durante inanición. Las enzimas gluconeogénicas clave se expresan en el intestino delgado, pero no está claro si hay producción importante de glucosa por el intestino en el estado de ayuno.

Un aporte de glucosa es necesario, en especial para el sistema nervioso y los eritrocitos. Después de un ayuno durante toda la noche, la glucogenolisis (capítulo 19) y la gluconeogénesis hacen contribuciones casi iguales a la glucosa en sangre; a medida que las reservas de glucógeno se agotan, la gluconeogénesis se hace progresivamente más importante.

La falla en la gluconeogénesis por lo general es mortal. La **hipoglucemia** causa disfunción cerebral, lo que puede conducir a coma y muerte. La glucosa también tiene importancia en el mantenimiento de las concentraciones adecuadas de intermediarios del ciclo del ácido cítrico (capítulo 16) aun cuando los ácidos grasos son la principal fuente de acetil-CoA en los tejidos. Además, la gluconeogénesis elimina lactato producido por los músculos y los eritrocitos, y glicerol producido por el tejido adiposo. En rumiantes, el propionato es un producto del metabolismo de los carbohidratos en el rumen, y es un sustrato importante para la gluconeogénesis.

La gluconeogénesis excesiva ocurre en **pacientes muy graves** en respuesta a lesión e infección, lo que contribuye a la **hiperglucemia** que se relaciona con mal resultado. La hiperglucemia lleva a cambios de la osmolalidad de los líquidos corporales, flujo sanguíneo alterado, acidosis intracelular, y aumento de la producción de radicales superóxido (capítulo 45), lo que da lugar a función alterada del endotelio y del sistema inmunitario, y coagulación sanguínea alterada. La gluconeogénesis excesiva también es un factor contribuidor a la hiperglucemia en la **diabetes tipo 2** debido a la regulación descendente en respuesta a la insulina.

LA GLUCONEOGÉNESIS INVOLUCRA GLUCÓLISIS, EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO, MÁS ALGUNAS REACCIONES ESPECIALES

Las barreras termodinámicas impiden una reversión simple de la glucólisis

Tres reacciones desequilibradas en la glucólisis (capítulo 17), catalizadas por hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa, impiden la reversión simple de la glucólisis para la síntesis de glucosa (**figura 19-1**); tales reacciones se esquivan de las siguientes maneras.

Piruvato y fosfoenolpiruvato

La reversión de la reacción catalizada por la piruvato cinasa en la glucólisis involucra dos reacciones endotérmicas. La **piruvato carboxilasa** mitocondrial cataliza la carboxilación de piruvato hacia oxaloacetato, una reacción que necesita ATP en la cual la vitamina biotina es la coenzima. La biotina se une al CO_2 proveniente de bicarbonato como carboxibiotina antes de la adición del CO_2 al piruvato (figura 44-17). El oxaloacetato resultante es reducido a malato, exportado desde la mitocondria hacia el citosol, y ahí oxidado de regreso a oxaloacetato. Una segunda enzima, la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, cataliza la descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato usando GTP

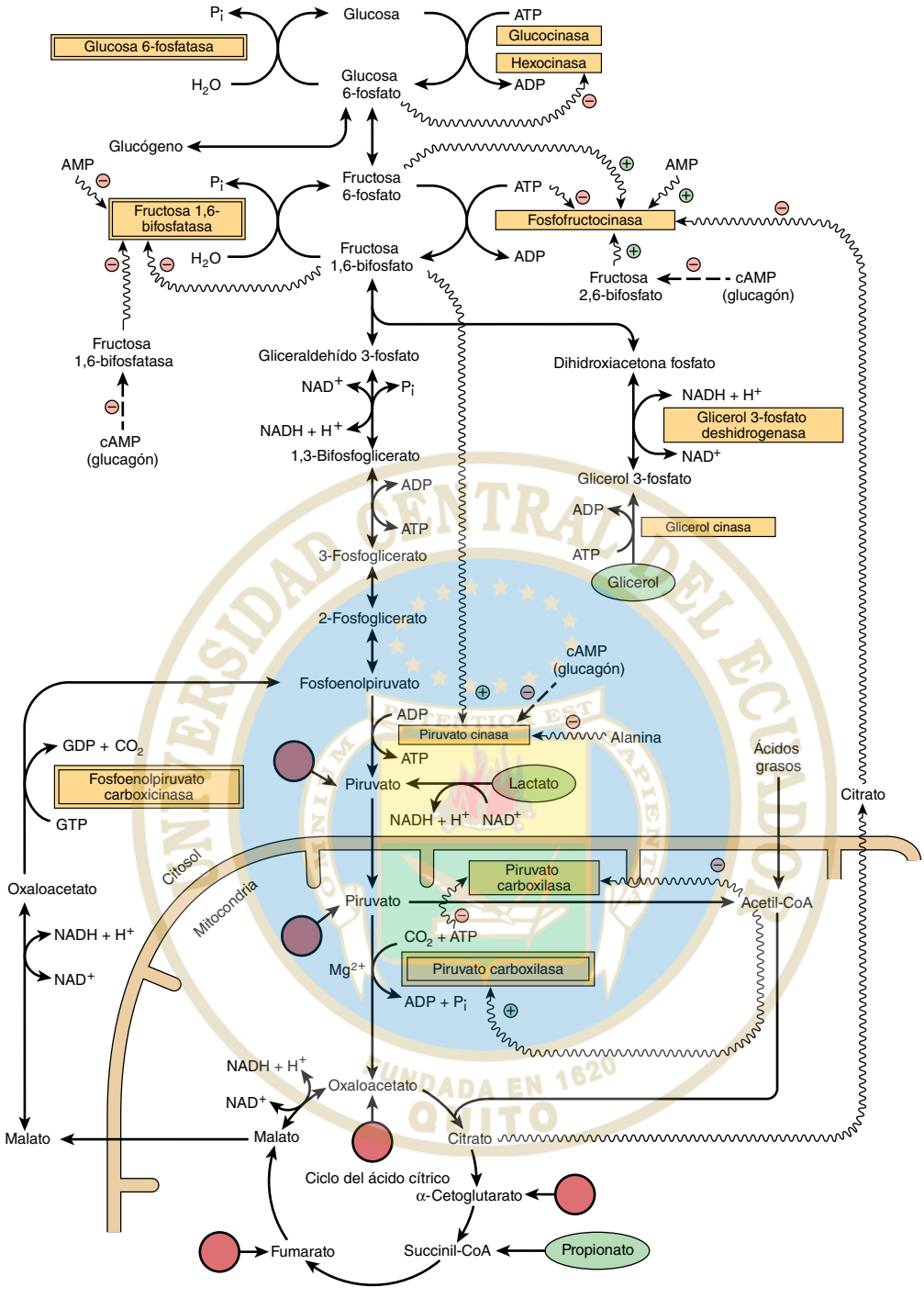


FIGURA 19-1 Principales vías y regulación de la gluconeogénesis y la glucólisis en el hígado. Los puntos de entrada de aminoácidos glucogénicos después de transaminación están indicados con flechas que se extienden desde círculos (véase también la figura 16-4). Las enzimas gluconeogénicas clave están encerradas en recuadros con doble marco. La oxidación de ácidos grasos proporciona el ATP requerido para la gluconeogénesis. El propionato sólo tiene importancia cuantitativa en rumiantes. Las flechas con eje ondulado significan efectos alostéricos, y las flechas con eje discontinuo, la modificación covalente por fosforilación reversible. La concentración alta de alanina actúa como una "señal gluconeogénica" al inhibir la glucólisis en el paso de la piruvato cinasa.

como el donador de fosfato. En hígado y riñones, la reacción de la succinato tiocinasa en el ciclo del ácido cítrico (váse capítulo 16) produce GTP (en lugar de ATP como en otros tejidos), y este GTP se usa para la reacción de fosfoenolpiruvato carboxicinasa, lo que proporciona un enlace entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y la gluconeogénesis, con el fin de prevenir la eliminación excesiva de oxaloacetato para gluconeogénesis, lo que alteraría la actividad del ciclo del ácido cítrico.

Fructosa 1,6-bisfosfato y fructosa 6-fosfato

La **fructosa 1,6-bisfosfatasa** cataliza la conversión de fructosa 1,6-bisfosfato en fructosa 6-fosfato, para la reversión de la glucólisis. Su presencia determina si un tejido tiene la capacidad para sintetizar glucosa (o glucógeno) no sólo a partir de piruvato, sino también a partir de triosa fosfatos. Está presente en el hígado, los riñones y el músculo estriado, pero probablemente falta en el corazón y el músculo liso.

Glucosa 6-fosfato y glucosa

La **glucosa 6-fosfatasa** cataliza la conversión de glucosa 6-fosfato en glucosa. Dicha enzima está presente en hígado y riñones, pero falta en el músculo que, en consecuencia, no puede exportar glucosa hacia el torrente sanguíneo.

Glucosa 1-fosfato y glucógeno

La fosforilasa cataliza la desintegración de glucógeno hacia glucosa 1-fosfato. La síntesis de glucógeno comprende una vía diferente por medio de la uridina difosfato glucosa y la **glucógeno sintasa** (figura 18-1).

En la figura 19-1 se muestran las relaciones entre gluconeogénesis y la vía glucolítica. Luego de transaminación o desaminación, los aminoácidos glucogénicos dan piruvato o intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Por ende, las reacciones ya descritas pueden explicar la conversión tanto de lactato como de aminoácidos glucogénicos en glucosa o glucógeno.

El propionato es un precursor importante de la glucosa en rumiantes; entra en la gluconeogénesis por medio del ciclo del ácido cítrico. Después de esterificación con CoA, la propionil-CoA es carboxilada hacia D-metilmalonil-CoA, lo cual es catalizado por la **propionil-CoA carboxilasa**, una enzima dependiente de biotina (**figura 19-2**). La **metilmalonil-CoA racemasa** cataliza la conversión de **D-metilmalonil-CoA** en **L-metilmalonil-CoA**, que luego pasa por isomerización hacia succinil-CoA, catalizada por la **metilmalonil-CoA mutasa**. En no rumiantes, incluso seres humanos, el propionato surge a partir de la β-oxidación de ácidos grasos de cadena impar que se encuentran en lípidos de rumiante (capítulo 22), así como la oxidación de isoleucina y la cadena lateral de colesterol, y es un sustrato (relativamente menor) para la gluconeogénesis. La metilmalonil-CoA mutasa es una enzima dependiente de vitamina B_{12}, y en la deficiencia el ácido metilmalónico se excreta en la orina (**metilmalonicaciduria**).

El glicerol se libera a partir del tejido adiposo como resultado de lipólisis de lipoproteína triacilglicerol en el estado posprandial; puede usarse para reesterificación de ácidos grasos libres hacia triacilglicerol o el hígado, o puede ser un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado. En el estado de ayuno el glicerol liberado a partir de la lipólisis del triacilglicerol del tejido adiposo se usa sólo como un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado y los riñones.

LA GLUCÓLISIS Y LA GLUCONEOGÉNESIS COMPARTEN LA MISMA VÍA, PERO EN DIRECCIONES OPUESTAS Y SE REGULAN DE MODO RECÍPROCO

Los cambios de la disponibilidad de sustratos son la causa de la mayor parte de las modificaciones del metabolismo al actuar de manera directa o indirecta por medio de variaciones de la secreción de hormona. Tres mecanismos se encargan de regular la actividad de enzimas vinculadas con el metabolismo de carbohidratos: 1) cambios del índice de síntesis de enzima, 2) modificación covalente por medio de fosforilación reversible y 3) efectos alostéricos.

La inducción y represión de enzimas clave requiere varias horas

El **cuadro 19-1** lista los cambios de la actividad enzimática en el hígado que ocurren en diversos estados metabólicos. Las enzimas

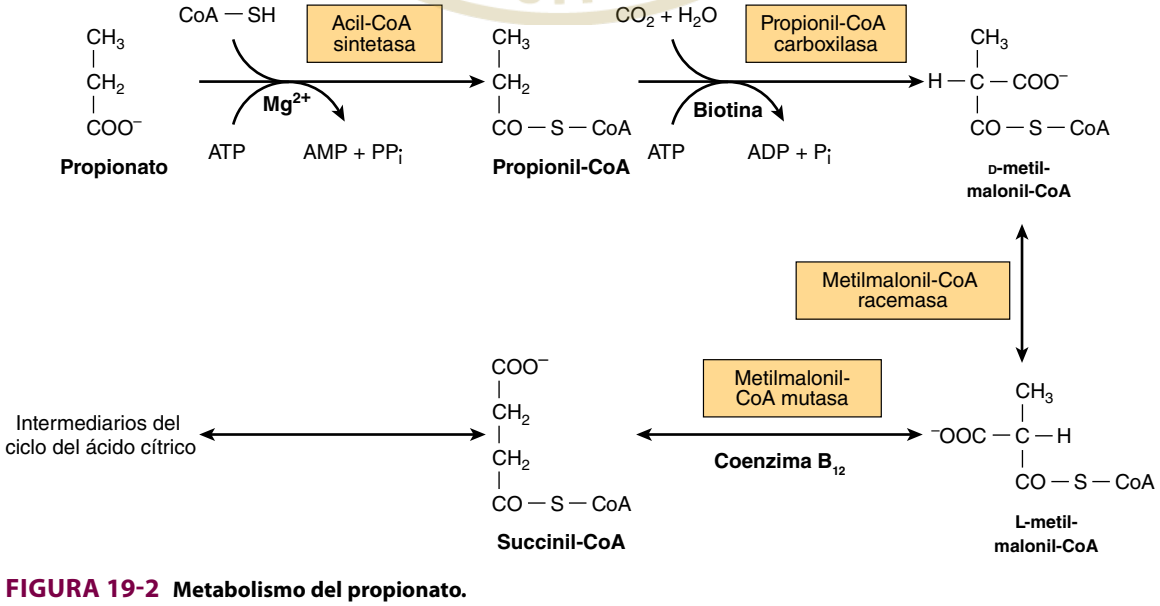


FIGURA 19-2 **Metabolismo del propionato.**

CUADRO 19-1 Enzimas reguladoras y adaptativas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos

	Actividad en					
	Alimentación de carbohidrato	Ayuno y diabetes	Inductor	Represor	Activador	Inhibidor
Glucogenolisis, glucólisis y oxidación de piruvato						
Glucógeno sintasa	↑	↓			Insulina, glucosa 6-fosfato	Glucagón
Hexocinasa						Glucosa 6-fosfato
Glucocinasa	↑	↓	Insulina	Glucagón		
Fosfofructocinasa-1	↑	↓	Insulina	Glucagón	5'AMP, fructosa 6-fosfato, fructosa 2,6-bisfosfato, P_i	Citrato, ATP, glucagón
Piruvato cinasa	↑	↓	Insulina, fructosa	Glucagón	Fructosa 1,6-bisfosfato, insulina	ATP, alanina, glucagón, norepinefrina
Piruvato deshidrogenasa	↑	↓			CoA, NAD+, insulina, ADP, piruvato	Acetil CoA, NADH, ATP (ácidos grasos, cuerpos cetónicos)
Gluconeogénesis						
Piruvato carboxilasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, epinefrina	Insulina	Acetil CoA	ADP
Fosfoenolpiruvato carboxicinasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, epinefrina	Insulina	¿Glucagón?	
Glucosa 6-fosfatasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, epinefrina	Insulina		

involucradas catalizan reacciones desequilibradas irreversibles desde el punto de vista fisiológico. Los efectos por lo común se refuerzan porque la actividad de las enzimas que catalizan las reacciones en la dirección opuesta varía de modo recíproco (figura 19-1). Las enzimas comprendidas en la utilización de glucosa (es decir, las de la glucólisis y la lipogénesis) se tornan más activas cuando hay superfluidez de glucosa, y en estas condiciones las enzimas de la gluconeogénesis tienen actividad baja. La insulina, misma que es secretada en respuesta a glucosa sanguínea aumentada, incrementa la síntesis de las enzimas clave en la glucólisis. También antagoniza el efecto de los glucocorticoides y del cAMP estimulado por glucagón, que induce la síntesis de las enzimas clave de la gluconeogénesis.

La modificación covalente por medio de fosforilación reversible es rápida

El **glucagón** y la **epinefrina**, hormonas de las cuales depende una disminución de la glucosa en la sangre, inhiben la glucólisis y estimulan la gluconeogénesis en el hígado al aumentar la concentración de cAMP. Esto, a su vez, activa a la proteína cinasa dependiente de cAMP, lo que da pie a la fosforilación y desactivación de la **piruvato cinasa**. Asimismo, afectan las cifras de la fructosa 2,6-bisfosfato y, por consiguiente, la glucólisis y la gluconeogénesis, como se describe más adelante.

La modificación alostérica es instantánea

En la gluconeogénesis, la piruvato carboxilasa, que cataliza la síntesis de oxaloacetato a partir de piruvato, necesita acetil-CoA como un **activador alostérico**. La adición de acetil-CoA suscita un cambio de la estructura terciaria de la proteína, lo que origina decremento de la K_m para bicarbonato. Esto significa que a medida que se forma acetil-CoA a partir de piruvato, asegura de manera automática el suministro de oxaloacetato y, por tanto, su oxidación adicional en el ciclo del ácido cítrico, al activar a la piruvato carboxilasa. La activación de esta última, y la inhibición recíproca de piruvato deshidrogenasa por la acetil-CoA derivada de la oxidación de ácidos grasos, explican la acción de la oxidación de ácidos grasos en la preservación de la oxidación de piruvato (y, por tanto, glucosa) y la estimulación de la gluconeogénesis. La relación recíproca entre estas dos enzimas altera el destino metabólico del piruvato a medida que el tejido cambia desde la oxidación de carbohidratos (glucólisis) hacia gluconeogénesis en el transcurso de la transición desde el estado posprandial hacia el de

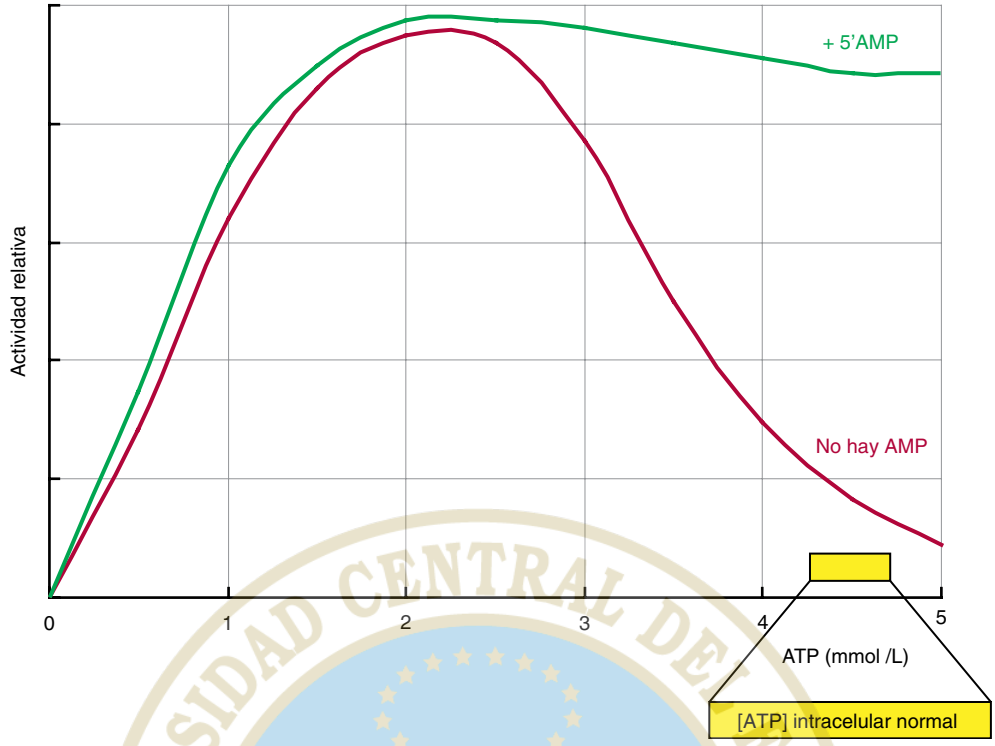


FIGURA 19-3 **La inhibición de la fosfofructocinasa-1 por el ATP, y el alivio de la inhibición por el 5'AMP.**

ayuno (figura 19-1). Una función importante de la oxidación de ácidos grasos en la promoción de la gluconeogénesis es suministrar el ATP requerido.

La **fosfofructocinasa (fosfofructocinasa-1)** ocupa una posición clave en la regulación de la glucólisis y está también sujeta a control por retroalimentación. Es inhibida por citrato y por concentración intracelular normal de ATP, y es activada por el 5'AMP. En presencia de [ATP] intracelular normal, la enzima está inhibida alrededor de 90%; esta inhibición es revertida por el 5'AMP (**figura 19-3**).

El 5'AMP actúa como un indicador del estado de energía de la célula. La presencia de **adenilil cinasa** en el hígado y muchos otros tejidos permite el equilibrio rápido de la reacción

$$2ADP \leftrightarrow ATP + 5' AMP$$

Así, cuando se usa ATP en procesos que requieren energía, lo que da por resultado formación de ADP, el [AMP] aumenta. Una aminoración hasta cierto punto pequeña del [ATP] causa un incremento de varias veces del [AMP], de modo que este último actúa como un amplificador metabólico de un cambio pequeño de [ATP] y, en consecuencia, una señal sensible del estado de energía de la célula. De esta manera, la actividad de la fosfofructocinasa-1 está regulada en respuesta al estado de energía de la célula para controlar la cantidad de carbohidrato que está pasando por glucólisis antes de su entrada hacia el ciclo del ácido cítrico. Al mismo tiempo, el AMP activa a la glucógeno fosforilasa, así como aumenta la glucogenolisis. Una consecuencia de la inhibición de la fosfofructocinasa-1 es una acumulación de glucosa 6-fosfato que, a su vez, inhibe la captación adicional de glucosa en tejidos extrahepáticos mediante inhibición de la hexocinasa.

La fructosa 2,6-bisfosfato desempeña una función singular en la regulación de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado

La **fructosa 2,6-bisfosfato** es el más potente activador alostérico positivo de la fosfofructocinasa-1, e inhibidor de la fructosa 1,6- bisfosfatasa en el hígado. Alivia la inhibición de la fosfofructocinasa-1 por el ATP, y aumenta la afinidad por la glucosa 6-fosfato. Inhibe la fructosa 1,6-bisfosfatasa al incrementar la K_m para la fructosa 1,6-bisfosfato. Sus cifras están bajo control tanto de sustrato (alostérico) como hormonal (modificación covalente) (**figura 19-4**).

La fructosa 2,6-bisfosfato se forma por fosforilación de la fructosa 6-fosfato por la **fosfofructocinasa-2**. La misma proteína enzima también se encarga de su desintegración, porque tiene actividad de **fructosa 2,6-bisfosfatasa**; esta **enzima bifuncional** está bajo el control alostérico de la fructosa 6-fosfato, que estimula a la cinasa e inhibe a la fosfatasa. Por ende, cuando hay aporte abundante de glucosa, aumenta la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato, lo que estimula la glucólisis al activar a la fosfofructocinasa-1 e inhibir a la fructosa 1,6-bisfosfatasa. En el estado de ayuno, el glucagón estimula la producción de cAMP, lo que activa a la proteína cinasa dependiente de cAMP que, a su vez, desactiva a la fosfofructocinasa-2 y activa a la fructosa 2,6-bisfosfatasa por medio de fosforilación. Por consiguiente, la gluconeogénesis es estimulada por un decremento de la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato, lo que desactiva a la fosfofructocinasa-1 y elimina la inhibición de fructosa 1,6-bisfosfatasa. La xilulosa 5-fosfato, un intermediario de la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20), activa la proteína fosfatasa que desfosforila la enzima bifuncional, de modo que aumenta la formación de

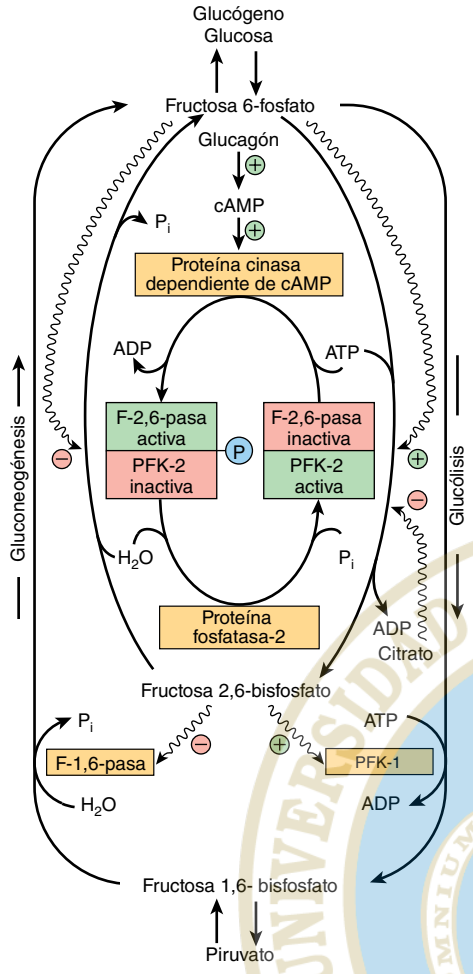


FIGURA 19-4 Control de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado por medio de la fructosa 2,6-bisfosfato y la enzima bifuncional PFK-2/F-2,6-Pasa (6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa). (PKF-1, fosfofructocinasa-1 [6-fosfofructo-1-cinasa]; F-1,6-Pasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa.) Las flechas onduladas indican efectos alostéricos.

glucosa 2,6-bifosfato e incrementa la tasa de glucólisis. Esto lleva a aumento del flujo por la glucólisis y la vía de la pentosa fosfato, e incremento de la síntesis de ácidos grasos (capítulo 23).

Los ciclos de sustrato (fútil) permiten ajuste fino y respuesta rápida

Los puntos de control en la glucólisis y el metabolismo del glucógeno incluyen un ciclo de fosforilación y desfosforilación catalizado por la glucocinasa y la glucosa 6-fosfatasa; la fosfofructocinasa-1 y la fructosa 1,6-bisfosfatasa; la piruvato cinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa, y la glucógeno sintasa y fosforilasa. Parecería obvio que estas enzimas que se oponen están reguladas de tal manera que cuando las que participan en la glucólisis están activas, las que lo hacen en la gluconeogénesis están inactivas, porque de otro modo estarían pasando por ciclos entre intermediarios fosforilados y no fosforilados, con hidrólisis neta de ATP. Aun cuando esto es así, en el músculo tanto la fosfofructocinasa como la fructosa 1,6-bisfosfatasa tienen cierta actividad en todo momento, de manera que en realidad hay cierta medida de paso por ciclos de sustrato (con derroche). Esto permite el aumento muy rápido del índice de glucólisis necesario para la contracción muscular. En reposo el índice de actividad de fosfofructocinasa es alrededor de 10 veces más alto que el de la fructosa 1,6-bisfosfatasa; en anticipación de contracción muscular, la actividad de ambas enzimas aumenta, la de fructosa 1,6-bisfosfatasa 10 veces más que la de la fosfofructocinasa, lo que mantiene el mismo índice neto de glucólisis. Al principio de la contracción muscular, la actividad de la fosfofructocinasa aumenta más, y hay decremento de la de fructosa 1,6-bisfosfatasa, lo que incrementa el índice neto de glucólisis (y, por tanto, la formación de ATP) hasta 1 000 veces.

LA CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE GLUCOSA ESTÁ REGULADA DENTRO DE LÍMITES ESTRECHOS

En el estado posterior a la absorción, las cifras de glucosa en la sangre en casi todos los mamíferos se mantienen entre 4.5 y 5.5 mmol/L. Después de la ingestión de una comida de carbohidrato, llegan a aumentar hasta 6.5 a 7.2 mmol/L, y en la inanición, pueden aminorarse hasta 3.3 a 3.9 mmol/L. Una disminución repentina de la glucosa en la sangre (p. ej., en respuesta a sobredosis de insulina) causa convulsiones, debido a la dependencia del cerebro de un aporte de glucosa. Sin embargo, es posible que se toleren concentraciones mucho menores si la hipoglucemia sobreviene con suficiente lentitud como para que haya adaptación. La concentración de glucosa en la sangre en aves es bastante más alta (14.0 mmol/L), y en rumiantes mucho más baja (alrededor de 2.2 mmol/L en ovejas, y 3.3 mmol/L en el ganado vacuno). Estas concentraciones normales más bajas parecen vincularse con el hecho de que los rumiantes fermentan casi todo el carbohidrato de la dieta hacia ácidos grasos de cadena corta, y éstos reemplazan en su mayor parte a la glucosa como el principal combustible metabólico de los tejidos en el estado posprandial.

LA GLUCOSA EN SANGRE PROVIENE DE LA DIETA, LA GLUCONEOGÉNESIS Y LA GLUCOGENOLISIS

Los carbohidratos de la dieta digeribles dan glucosa, galactosa y fructosa que se transportan hacia el hígado mediante la **vena porta hepática**. La galactosa y la fructosa se convierten con facilidad en glucosa en hígado (capítulo 20).

La glucosa se forma a partir de dos grupos de compuestos que pasan por gluconeogénesis (figuras 16-4 y 19-1): 1) los que comprenden una conversión neta directa en glucosa, incluso casi todos los **aminoácidos** y el **propionato**, y 2) los que son los productos del metabolismo de la glucosa en los tejidos. De este modo, el **lactato**, formado por medio de glucólisis en el músculo estriado y los eritrocitos, se transporta hacia el hígado y los riñones, donde vuelve a formar glucosa, la cual de nuevo queda disponible mediante la circulación para oxidación en los tejidos. Este proceso se conoce como el **ciclo de Cori** o el **ciclo del ácido láctico (figura 19-5)**.

En el estado de ayuno, hay considerable gasto de alanina desde el músculo estriado, que excede sobremanera sus cifras

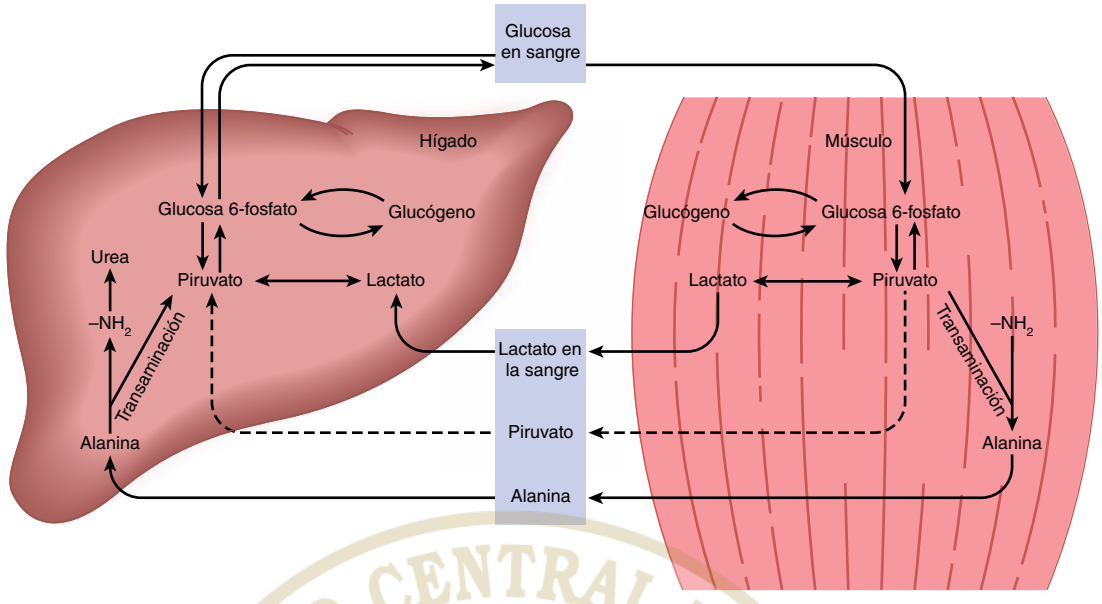


FIGURA 19-5 **Los ciclos del ácido láctico (ciclo de Cori) y de la glucosa-alanina.**

en las proteínas musculares que se están catabolizando. Se forma por transaminación de piruvato producido por medio de glucólisis de glucógeno muscular, y se exporta hacia el hígado, donde, luego de transaminación de regreso a piruvato, es un sustrato para la gluconeogénesis. Así, este **ciclo de glucosa-alanina** (figura 19-5) proporciona una manera indirecta de emplear el glucógeno muscular para mantener la glucosa sanguínea en el estado de ayuno. El ATP requerido para la síntesis hepática de glucosa a partir del piruvato se deriva de la oxidación de ácidos grasos.

También se forma glucosa a partir del glucógeno hepático mediante glucogenolisis (capítulo 18).

Mecanismos metabólicos y hormonales regulan la concentración de glucosa en sangre

El mantenimiento de concentraciones estables de glucosa en sangre es uno de los mecanismos homeostáticos regulados de manera más fina, que incluye el hígado, tejidos extrahepáticos y varias hormonas. Las células hepáticas son libremente permeables a la glucosa en cualquier dirección (por medio del transportador GLUT 2), mientras que las células de los tejidos extrahepáticos (excepto los islotes β pancreáticos) son relativamente impermeables, y sus transportadores unidireccionales de glucosa están regulados por insulina. Como resultado, la captación desde el torrente sanguíneo es el paso limitante en la utilización de glucosa en tejidos extrahepáticos. El **cuadro 19-2** muestra la función de diversas proteínas transportadoras de glucosa que se encuentran en membranas celulares.

La glucocinasa es importante en la regulación de la glucosa en sangre después de una comida

La hexocinasa tiene una K_m baja para la glucosa, y en el hígado está saturada y actuando a una tasa constante en todas las condiciones normales. De este modo, actúa para asegurar una tasa adecuada de glucólisis para satisfacer las necesidades del hígado. La glucocinasa tiene una K_m considerablemente más alta (afinidad más baja) para la glucosa, de modo que su actividad aumenta con incrementos de la concentración de glucosa en la vena porta

CUADRO 19-2 **Principales transportadores de glucosa**

	Localización en los tejidos	Funciones
Transportadores bidireccionales facilitadores		
GLUT 1	Cerebro, riñones, colon, placenta, eritrocitos	Captación de glucosa
GLUT 2	Hígado, células β pancreáticas, intestino delgado, riñones	Captación o liberación rápida de glucosa
GLUT 3	Cerebro, riñones, placenta	Captación de glucosa
GLUT 4	Músculo cardíaco y estriado, tejido adiposo	Captación de glucosa estimulada por insulina
GLUT 5	Intestino delgado	Absorción de glucosa
Transportador unidireccional dependiente de sodio		
SGLT 1	Intestino delgado y riñones	Captación activa de glucosa contra un gradiente de concentración

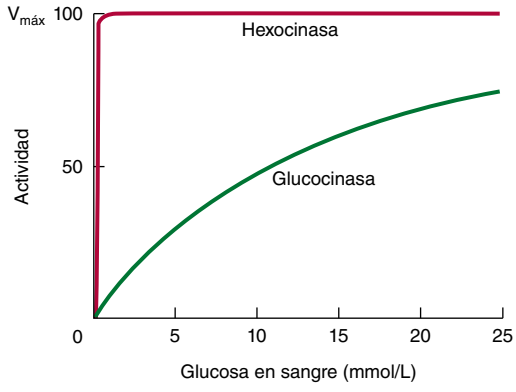


FIGURA 19-6 Variación de la actividad fosforilante de glucosa de la hexocinasa y la glucocinasa con el aumento de la concentración de glucosa en la sangre. La K_m para la glucosa de la hexocinasa es de 0.05 mmol/L, y de la glucocinasa, de 10 mmol/L.

hepática (**figura 19-6**). Permite la captación hepática de grandes cantidades de glucosa después de una comida de carbohidratos, para la síntesis de glucógeno y de ácidos grasos, de modo que mientras que la concentración de glucosa en la vena porta hepática puede alcanzar 20 mmol/L después de una comida, la concentración en la sangre que sale del hígado hacia la circulación periférica normalmente no excede 8 a 9 mmol/L. No hay glucocinasa en el hígado de rumiantes, en los cuales entra poca glucosa a la circulación portal desde los intestinos.

A concentraciones normales de glucosa en sangre sistémica (4.5 a 5.5 mmol/L), el hígado es un productor neto de glucosa. Empero, conforme aumentan las cifras de esta última, el gasto de glucosa cesa y hay una captación neta.

La insulina desempeña una función fundamental en la regulación de la glucosa en sangre

Además de los efectos directos de la hiperglucemia en el aumento de la captación de glucosa hacia el hígado, la hormona insulina desempeña una función fundamental en la regulación de la glucosa en la sangre. Se produce en las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas en respuesta a hiperglucemia. Las células β de los islotes son libremente permeables a la glucosa mediante el transportador GLUT 2, y la glucosa es fosforilada por la glucocinasa. En consecuencia, el aumento de la glucosa en la sangre incrementa el flujo metabólico por glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, y la generación de ATP. El aumento de [ATP] inhibe los canales de K^+ sensibles a ATP, lo que causa despolarización de la membrana celular; ello incrementa el flujo de entrada de Ca^{2+} por medio de canales del Ca^{2+} sensibles a voltaje, lo que estimula la exocitosis de insulina. De esta manera, la concentración de insulina en sangre corre a la par con la de la glucosa sanguínea. Otras sustancias que suscitan liberación de insulina desde el páncreas son aminoácidos, ácidos grasos libres no esterificados, cuerpos cetónicos, glucagón, secretina y los fármacos de sulfonilurea tolbutamida y gliburida. Estos medicamentos se usan para estimular la secreción de insulina en la diabetes de tipo 2 vía los canales de K^+ sensibles a ATP. La epinefrina y la norepinefrina bloquean la liberación de insulina. La insulina produce decremento inmediato de la glucosa en sangre al incrementar el transporte de glucosa hacia el tejido adiposo y el músculo por medio de reclutamiento de transportadores de glucosa (GLUT 4) desde el interior de la célula hacia la membrana plasmática. Si bien no afecta la captación de glucosa hacia el hígado de modo directo, la insulina aumenta la captación a largo plazo como resultado de sus acciones sobre las enzimas que controlan la glucólisis, la glucogénesis y la gluconeogénesis (capítulo 18 y cuadro 19-1).

El **glucagón** es la hormona producida por las células α de los islotes pancreáticos; su secreción es estimulada por la hipoglucemia. En el hígado estimula la glucogenolisis al activar la fosforilasa. Al contrario de la epinefrina, el glucagón carece de efecto sobre la fosforilasa muscular. El glucagón también aumenta la gluconeogénesis a partir de aminoácidos y lactato. En todas estas acciones, el glucagón actúa por medio de generación de cAMP (cuadro 19-1). Tanto la glucogenolisis como la gluconeogénesis hepáticas contribuyen al **efecto hiperglucemiante** del glucagón, cuyas acciones se oponen a las de la insulina. La mayor parte del glucagón (y de la insulina) endógeno se elimina de la circulación mediante el hígado (**cuadro 19-3**).

Otras hormonas afectan la glucosa en sangre

La parte **anterior de la hipófisis** secreta hormonas que tienden a aumentar la glucosa en la sangre y, por ende, antagonizan la acción de la insulina. Son la hormona de crecimiento, la hormona adrenocorticotrópica (ACTH; corticotropina) y quizás otras hormonas "diabetogénicas". La hipoglucemia estimula la secreción de hormona de crecimiento; esta última aminora la captación de glucosa en el músculo. Parte de este efecto puede ser indirecto, porque estimula la movilización de ácidos grasos libres

CUADRO 19-3 Respuestas del tejido a la insulina y el glucagón

	Hígado	Tejido adiposo	Músculo
Aumentado por insulina	Síntesis de ácidos grasos Síntesis de glucógeno Síntesis de proteína	Captación de glucosa Síntesis de ácidos grasos	Captación de glucosa Síntesis de glucógeno Síntesis de proteína
Disminuido por insulina	Cetogénesis Gluconeogénesis	Lipólisis	
Aumentado por glucagón	Glucogenolisis Gluconeogénesis Cetogénesis	Lipólisis	

desde el tejido adiposo, que por sí mismos inhiben la utilización de glucosa. Los **glucocorticoides** (11-oxiesteroides) se secretan en la médula suprarrenal y son sintetizados también de una manera no regulada en el tejido adiposo. Su acción incrementa la gluconeogénesis como resultado de aumento del catabolismo hepático de aminoácidos, debido a la inducción de aminotransferasas (y otras enzimas como la triptófano dioxigenasa) y enzimas clave de la gluconeogénesis. Además, los glucocorticoides inhiben la utilización de glucosa en tejidos extrahepáticos. En todas estas acciones, los glucocorticoides actúan de un modo antagonista a la insulina. Varias **citocinas** secretadas por macrófagos que infiltran el tejido adiposo también tienen acciones antagonistas de la insulina; junto con los glucocorticoides secretados por el tejido adiposo, esto explica la resistencia a la insulina que suele observarse en obesos.

La **epinefrina** es secretada por la médula suprarrenal como resultado de estímulos estresantes (temor, emoción, hemorragia, hipoxia, hipoglucemia, etc.) y lleva a glucogenolisis en el hígado y el músculo debido a estimulación de la fosforilasa por medio de generación de cAMP. En el músculo, la glucogenolisis produce incremento de la glucólisis, mientras que en el hígado ocasiona la liberación de glucosa hacia el torrente sanguíneo.

ASPECTOS CLÍNICOS ADICIONALES

Cuando se supera el umbral renal para la glucosa se produce glucosuria

Cuando las concentraciones de la glucosa en sangre se elevan de 10 mmol/L, los riñones también ejercen un efecto regulador (pasivo). Los glomérulos filtran de manera continua la glucosa, pero en circunstancias normales se resorbe por completo en los túbulos renales mediante transporte activo. La capacidad del sistema tubular para resorber glucosa está limitada a un índice de alrededor de 2 mmol/min, y en la hiperglucemia (como ocurre en la diabetes mellitus mal controlada), el filtrado glomerular puede contener más glucosa que la que es posible resorber, lo que da por resultado **glucosuria** cuando el **umbral renal** para la glucosa es excedido.

La hipoglucemia puede aparecer durante el embarazo y en el recién nacido

Durante la gestación, el consumo de glucosa por el feto aumenta, y hay riesgo de hipoglucemia materna y quizá fetal, en particular si hay intervalos prolongados entre las comidas o por la noche. Además, los lactantes prematuros y con peso bajo al nacer son más susceptibles a la hipoglucemia, porque tienen poco tejido adiposo para que proporcione ácidos grasos libres. Las enzimas de la gluconeogénesis quizá no se encuentren desarrolladas por completo en este momento, y la gluconeogénesis de cualquier modo depende de un aporte de ácidos grasos libres para obtener energía. Hay poco glicerol, que por lo normal se liberaría a partir del tejido adiposo, disponible para gluconeogénesis.

Medir la tolerancia a la glucosa permite determinar la capacidad del cuerpo para utilizarla

La tolerancia a la glucosa es la capacidad para regular su concentración en sangre después de la administración de una dosis de prueba de glucosa (por lo general 1 g/kg de peso corporal) (**figura 19-7**).

La **diabetes mellitus** (tipo 1 o insulinodependiente; IDDM) se caracteriza por disminución de la tolerancia a la glucosa a consecuencia de decremento de la secreción de insulina por destrucción progresiva de células β de los islotes pancreáticos. Asimismo, la tolerancia a la glucosa se ve afectada en la diabetes mellitus tipo

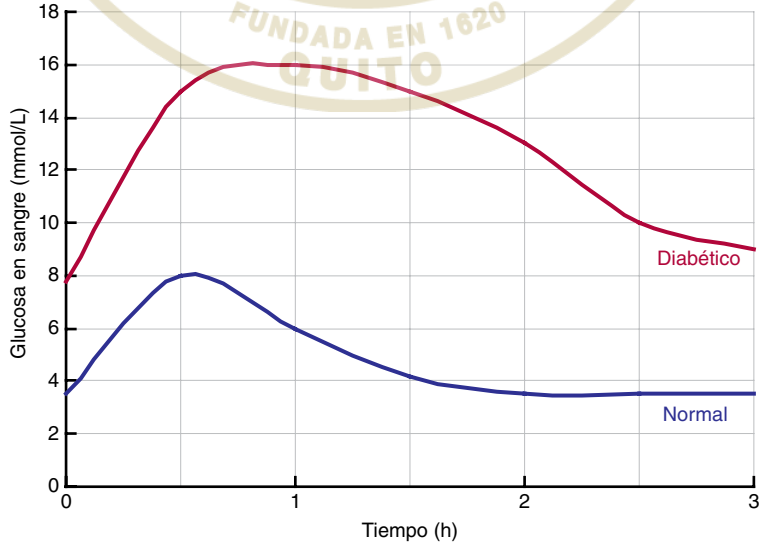


FIGURA 19-7 **Prueba de tolerancia a la glucosa.** Curvas de glucosa en sangre de una persona normal y de una diabética después de la administración por vía oral de 1 g de glucosa/kilogramo de peso corporal. Note la concentración aumentada inicial en el diabético en ayuno. Un criterio de normalidad es el regreso de la curva al valor inicial en el transcurso de 2 horas.

2 (no insulinodependiente; NIDDM) como resultado de sensibilidad alterada de los tejidos a la acción de la insulina. La resistencia a la insulina relacionada con obesidad (y en particular con la obesidad abdominal) que conduce a la aparición de hiperlipidemia, y luego a aterosclerosis y cardiopatía coronaria, así como a diabetes manifiesta, se conoce como el **síndrome metabólico**. La tolerancia a la glucosa también está alterada en situaciones en las cuales hay daño del hígado, en algunas infecciones, y en respuesta a algunos fármacos, así como en circunstancias que llevan a hiperactividad de la hipófisis o de la corteza suprarrenal debido a antagonismo de las hormonas secretadas por estas glándulas a la acción de la insulina.

La administración de insulina (como en el tratamiento de la diabetes mellitus) aminora la concentración sanguínea de glucosa, y aumenta su utilización y almacenamiento como glucógeno en el hígado y el músculo. Un exceso de insulina puede causar **hipoglucemia**, lo que origina convulsiones e incluso la muerte a menos que se administre glucosa con prontitud. En la insuficiencia hipofisaria o adrenocortical se observa incremento de la tolerancia a la glucosa, atribuible a una disminución del antagonismo para la insulina por las hormonas normalmente secretadas por estas glándulas.

El costo de la gluconeogénesis en cuanto a energía explica por qué las dietas con muy bajo contenido de carbohidratos promueven la pérdida de peso

Las dietas con muy bajo contenido de carbohidratos, que sólo proporcionan 20 g o menos de carbohidratos por día (en comparación con una ingestión deseable de 100 a 120 g/día), pero que permiten el consumo ilimitado de grasa y proteína, se han promovido como un régimen eficaz para la pérdida de peso, aun cuando esas dietas son contrarias a todas las recomendaciones respecto a una dieta prudente para que haya salud. Puesto que hay una demanda continua de glucosa, habrá una cantidad considerable de gluconeogénesis a partir de aminoácidos; el alto costo de ATP vinculado debe satisfacerse entonces por medio de oxidación de ácidos grasos.

RESUMEN

- La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de glucosa o glucógeno a partir de precursores que no son carbohidratos. Tiene especial importancia cuando el carbohidrato no está disponible a partir de la dieta. Los sustratos importantes son aminoácidos, lactato, glicerol y propionato.
- La vía de la gluconeogénesis en hígado y riñones utiliza las reacciones en la glucólisis que son reversibles, más cuatro reacciones adicionales que evitan el paso por las reacciones no de equilibrio irreversibles.
- Dado que la glucólisis y la gluconeogénesis comparten la misma vía pero operan en direcciones opuestas, es necesario que sus actividades se regulen de manera recíproca.
- El hígado regula la glucosa en la sangre después de una comida, porque contiene la glucocinasa alta en K_m que promueve el aumento de la utilización hepática de glucosa.
- La insulina se secreta como una respuesta directa a la hiperglucemia; estimula al hígado para que almacene glucosa como glucógeno, y facilita la captación de glucosa hacia tejidos extrahepáticos.
- El glucagón se secreta como una respuesta a la hipoglucemia y activa tanto la glucogenolisis como la gluconeogénesis en el hígado, lo que causa liberación de glucosa hacia la sangre.

REFERENCIAS

Barthel A, Schmoll D: Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003;285:E685.

Bijland S, Mancini SJ: Role of AMP-activated protein kinase in adipose tissue metabolism and inflammation. Clin Sci (Lond) 2013;124:491.

Boden G: Gluconeogenesis and glycogenolysis in health and diabetes. J Investig Med 2004;52:375.

Brealey D, Singer M: Hyperglycemia in critical illness: a review. J Diabetes Sci Technol 2009;3:1250.

Brooks GA: Cell-cell and intracellular lactate shuttles. J Physiol 2009;587:5591.

Dzugaj A: Localization and regulation of muscle fructose 1,6-bisphosphatase, the key enzyme of glyconeogenesis. Adv Enzyme Regul 2006;46:51.

Hers HG, Hue L: Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. Annu Rev Biochem 1983;52:617.

Jiang G, Zhang BB: Glucagon and regulation of glucose metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003;284:E671.

Jitrapakdee S, Vidal-Puig A, Wallace JC: Anaplerotic roles of pyruvate carboxylase in mammalian tissues. Cell Mol Life Sci 2006;63:843.

Jitrapakdee S, St Maurice M, Rayment, *et al*: Structure, mechanism and regulation of pyruvate carboxylase. Biochem J 2008;413:369.

Klover PJ, Mooney RA: Hepatocytes: critical for glucose homeostasis. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:753.

Lim CT, Kola B: AMPK as a mediator of hormonal signalling. J Mol Endocrinol 2010;44:87.

Mather A, Pollock C: Glucose handling by the kidney. Kidney Int Suppl 2011;120:S1.

McGuinness OP: Defective glucose homeostasis during infection. Ann Rev Nutr 2005;25:9.

Mithiuex G, Andreelli F, Magnan C: Intestinal gluconeogenesis: key signal of central control of energy and glucose homeostasis. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2009;12:419.

Mlinar B, Marc J, Janez A, *et al*: Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. Clin Chim Acta 2007;375:20.

Nordlie RC, Foster JD, Lange AJ: Regulation of glucose production by the liver. Ann Rev Nutr 1999;19:379.

Pilkis SJ, Claus TH: Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes. Ann Rev Nutr 1991;11:465.

Pilkis SJ, Granner DK: Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. Ann Rev Physiol 1992;54:885.

Postic C, Shiota M, Magnuson MA: Cell-specific roles of glucokinase in glucose homeostasis. Rec Prog Horm Res 2001;56:195.

Previs SF, Brunengraber DZ, Brunengraber H: Is there glucose production outside of the liver and kidney? Ann Rev Nutr 2009;29:43.

Quinn PG, Yeagley D: Insulin regulation of PEPCK gene expression: a model for rapid and reversible modulation. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2005;5:423.

Ramnanan CJ, Edgerton DS: Physiologic action of glucagon on liver glucose metabolism. Diabetes Obes Metab 2011;13(suppl 1):118.

Reaven GM: The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. Ann Rev Nutr 2005;25:391.

Roden M, Bernroider E: Hepatic glucose metabolism in humans—its role in health and disease. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2003;17:365.

Saggerson D: Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells. Ann Rev Nutr 2008;28:253.
Schuit FC, Huypens P, Heimberg H, Pipeleers DG: Glucose sensing in pancreatic beta-cells: a model for the study of other glucose-regulated cells in gut, pancreas, and hypothalamus. Diabetes 2001;50:1.
Suh SH, Paik IY, Jacobs K: Regulation of blood glucose homeostasis during prolonged exercise. Mol Cells 2007;23:272.
Triplitt CL: Understanding the kidneys' role in blood glucose regulation. Am J Manag Care 2012;18:S11.
Wahren J, Ekberg K: Splanchnic regulation of glucose production. Ann Rev Nutr 2007;27:329.
Yabaluri N, Bashyam MD: Hormonal regulation of gluconeogenic gene transcription in the liver. J Biosci 2010;35:473.
Young A: Inhibition of glucagon secretion. Adv Pharmacol 2005;52:151.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO

20

La vía de la pentosa fosfato y otras vías del metabolismo de hexosas

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la vía de la pentosa fosfato y sus funciones como una fuente de NADPH y en la síntesis de ribosa para la formación de nucleótidos.
- Describir la vía del ácido urónico y su importancia para la síntesis de ácido glucurónico, para reacciones de conjugación, y (en animales para los cuales no es una vitamina) la de la vitamina C.
- Describir y explicar las consecuencias de la ingesta aumentada de fructosa.
- Describir la síntesis e importancia fisiológica de la galactosa.
- Explicar las consecuencias de los defectos genéticos de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (favismo), de la vía del ácido urónico (pentosuria esencial) y del metabolismo de la fructosa y de la galactosa.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La vía de la pentosa fosfato es una ruta alternativa para el metabolismo de la glucosa. No conduce a la formación de ATP, sino a dos funciones importantes: 1) la formación de **NADPH** para la síntesis de ácidos grasos (capítulo 23) y esteroides (capítulo 26), y el mantenimiento del glutatión para la actividad antioxidante, y 2) la síntesis de **ribosa** para la formación de nucleótidos y ácidos nucleicos (capítulo 32). La glucosa, fructosa y galactosa son las principales hexosas que se absorbieron en el tubo digestivo, derivadas del almidón, la sacarosa y lactosa de la dieta, respectivamente. La fructosa y la galactosa pueden ser convertidas en glucosa, principalmente en el hígado.

La deficiencia genética de **glucosa 6-fosfato deshidrogenasa**, la primera enzima de la vía de la pentosa fosfato, es una causa importante de lisis aguda de eritrocitos, lo que resulta en **anemia hemolítica**. El ácido glucurónico se sintetiza a partir de la glucosa mediante la **vía del ácido urónico**, de importancia cuantitativa menor, pero indispensable para la conjugación y excreción de metabolitos y sustancias químicas externas (xenobióticos, capítulo 47) como **glucurónidos**. Una deficiencia en la vía conduce a la condición de **pentosuria esencial**. La carencia de una enzima de la vía (gulonolactona oxidasa) en primates y en algunos otros animales explica por qué el **ácido ascórbico** (vitamina C, capítulo 44) es un requerimiento de la dieta para humanos, pero no para los otros mamíferos. Las deficiencias de las enzimas del metabolismo de la fructosa y galactosa conducen a enfermedades metabólicas como **fructosuria esencial**, **intolerancia hereditaria a la fructosa** y **galactosemia**.

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO FORMA NADPH Y RIBOSA FOSFATO

La vía de la pentosa fosfato (vía alterna de las hexosas monofosfato; **figura 20-1**) es una vía más compleja que la glucólisis (capítulo 17). Tres moléculas de glucosa 6-fosfato dan lugar a tres moléculas de CO_2 y a tres azúcares de cinco carbonos, estas últimas se reordenan para regenerar dos moléculas de glucosa 6-fosfato y una molécula del intermediario glucolítico, gliceraldehído 3-fosfato. Dado que dos moléculas de gliceraldehído 3-fosfato pueden regenerar a glucosa 6-fosfato, la vía puede explicar la oxidación completa de la glucosa.

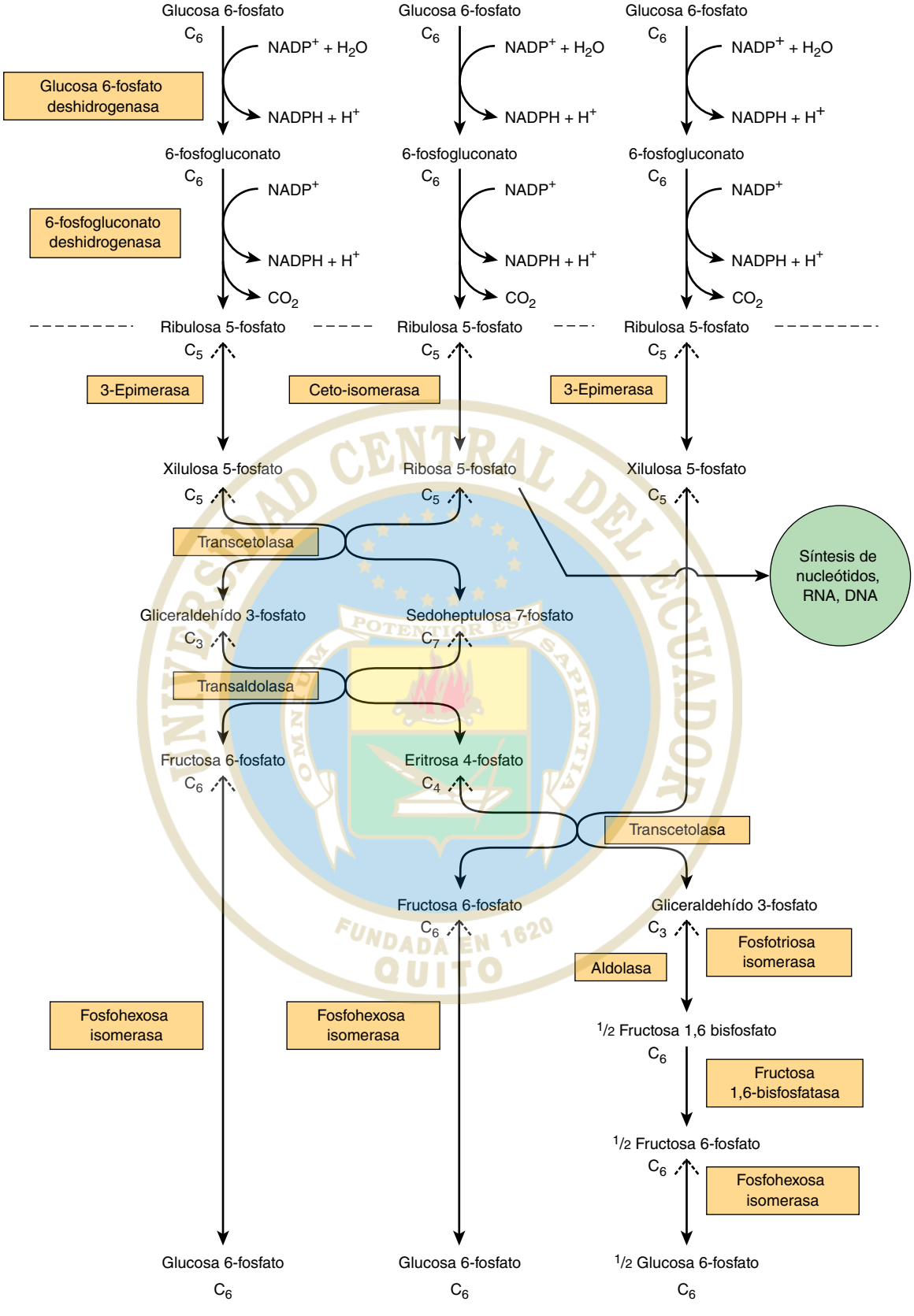


FIGURA 20-1 **Diagrama de flujo de la vía de la pentosa fosfato y sus conexiones con la vía de la glucólisis.** La vía completa, según se indica, consta de tres ciclos interconectados en los cuales la glucosa 6-fosfato es tanto sustrato como producto terminal. Las reacciones que están por arriba de la línea discontinua son irreversibles, mientras que todas las que están bajo esa línea son libremente reversibles excepto la catalizada por la fructosa 1,6-bisfosfatasa.

LAS REACCIONES DE LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO SUCEDEN EN EL CITOSOL

Al igual que la glucólisis, las enzimas de la vía de la pentosa fosfato son citosólicas, pero a diferencia de la glucólisis, la oxidación se logra por medio de deshidrogenación al usar **NADP**$^+$, no **NAD**$^+$, como el aceptor de hidrógeno. La secuencia de reacciones de la vía puede dividirse en dos fases: una **fase oxidativa irreversible** y una **fase no oxidativa reversible**. En la primera fase, la glucosa 6-fosfato es sometida a deshidrogenación y descarboxilación para dar una pentosa, la ribulosa 5-fosfato. En la segunda fase, la ribulosa 5-fosfato se vuelve a convertir en glucosa 6-fosfato mediante una serie de reacciones que involucran principalmente dos enzimas: **transcetolasa** y **transaldolasa** (figura 20-1).

La fase oxidativa genera NADPH

La deshidrogenación de la glucosa 6-fosfato a 6-fosfogluconato ocurre por medio de la formación de 6-fosfogluconolactona catalizada por la **glucosa 6-fosfato deshidrogenasa**, una enzima dependiente de NADP$^+$ (**figuras 20-1** y **20-2**). La hidrólisis de la 6-fosfogluconolactona se logra mediante la enzima **gluconolactona hidrolasa**. Un segundo paso oxidativo es catalizado por la **6-fosfogluconato deshidrogenasa**, que también necesita NADP$^+$ como aceptor de hidrógeno. A continuación ocurre una descarboxilación, con la formación de la cetopentosa ribulosa 5-fosfato.

En el retículo endoplasmático, una isoenzima de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, la hexosa 6-fosfato deshidrogenasa, proporciona NADPH para reacciones de hidroxilación (oxidasa de función mixta), y también para la 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa-1. Esta enzima cataliza la reducción de cortisona (inactiva) hacia cortisol (activo) en el hígado, el sistema nervioso y el tejido adiposo. Es la principal fuente de cortisol intracelular en estos tejidos, y puede ser importante en la obesidad y en el síndrome metabólico.

La fase no oxidativa genera precursores de la ribosa

La ribulosa 5-fosfato es el sustrato para dos enzimas. La **ribulosa 5-fosfato 3-epimerasa** altera la configuración alrededor del carbono 3, para formar el epímero xilulosa 5-fosfato, también una cetopentosa. La **ribosa 5-fosfato cetoisomerasa** convierte a la ribulosa 5-fosfato en la aldopentosa correspondiente, la ribosa 5-fosfato, que es usada para la síntesis de nucleótido y ácido nucleico. La **transcetolasa** transfiere la unidad de dos carbonos que incluye los carbonos 1 y 2 de una cetosa hacia el carbono aldehído de un azúcar aldosa. Por consiguiente, afecta la conversión de un azúcar cetosa en una aldosa con dos carbonos menos y un azúcar aldosa en una cetosa con dos carbonos más. La reacción requiere Mg^{2+} y **difosfato de tiamina** (vitamina B_1) como coenzima. La medición de la transcetolasa de eritrocito, y su activación por el difosfato de tiamina, proporciona un índice de vitamina B_1 relacionado con el estado nutricional (capítulo 44). Es probable que la porción de dos carbonos transferida al glucolaldehído sea unida al difosfato de tiamina. De este modo, la transcetolasa cataliza la transferencia de la unidad de dos carbonos desde la xilulosa 5-fosfato hacia la ribosa 5-fosfato, lo que produce la cetosa de siete carbonos la sedoheptulosa 7-fosfato, y la aldosa gliceraldehído 3-fosfato. Estos dos productos luego pasan por transaldolación. La **transaldolasa** cataliza la transferencia de un fragmento dihidroxiacetona de tres carbonos (carbonos 1 a 3) desde la cetosa sedoheptulosa 7-fosfato hacia la aldosa gliceraldehído 3-fosfato para formar la cetosa fructosa 6-fosfato y la aldosa de cuatro carbonos, la eritrosa 4-fosfato. La transaldolasa no tiene cofactor y la reacción procede mediante la formación de una base de Schiff intermediaria de dihidroxiacetona con el grupo ε-amino de un residuo lisina en la enzima. En una reacción adicional catalizada por **transcetolasa**, la xilulosa 5-fosfato sirve como un donador de glucolaldehído. En este caso la eritrosa 4-fosfato es el aceptor, y los productos de la reacción son fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato.

A fin de oxidar la glucosa por completo a CO_2 por medio de la vía de la pentosa fosfato, debe haber enzimas presentes en el tejido para convertir el gliceraldehído 3-fosfato en glucosa 6-fosfato. Esto implica la reversión de la glucólisis y a la enzima gluconeogénica **fructosa 1,6-bisfosfatasa**. En los tejidos que carecen de esta enzima, el gliceraldehído 3-fosfato sigue la vía normal de la glucólisis hacia piruvato.

Las dos principales vías para el catabolismo de la glucosa tienen poco en común

Si bien la glucosa 6-fosfato es común para ambas vías, la vía de la pentosa fosfato difiere de manera notoria de la glucólisis. En la oxidación se utiliza NADP$^+$ en lugar de NAD$^+$, y el CO_2, que no se produce en la glucólisis, es un producto característico. En la vía de la pentosa fosfato no se genera ATP, mientras que éste es un producto importante de la glucólisis.

Sin embargo, las dos vías están conectadas. La xilulosa 5-fosfato activa la proteína fosfatasa que desfosforila la enzima bifuncional 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bifosfatasa (capítulo 17). Esto activa la cinasa y desactiva la fosfatasa, que conduce a una formación incrementada de fructosa 2,6-bifosfato, actividad aumentada de fosfofructocinasa-1 y, por ende, flujo glucolítico aumentado. La xilulosa 5-fosfato también activa la proteína fosfatasa que inicia la translocación nuclear y la unión a DNA de la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidrato, lo que lleva al incremento en la síntesis de ácidos grasos (capítulo 23) en respuesta a una dieta rica en carbohidrato.

Los equivalentes reductores se generan en los tejidos especializados en síntesis reductivas

La vía de la pentosa fosfato es activa en el hígado, el tejido adiposo, la corteza suprarrenal, tiroides, eritrocitos, testículos y glándula mamaria en lactación. Su actividad es baja en la glándula mamaria que no está en lactación y en el músculo esquelético.

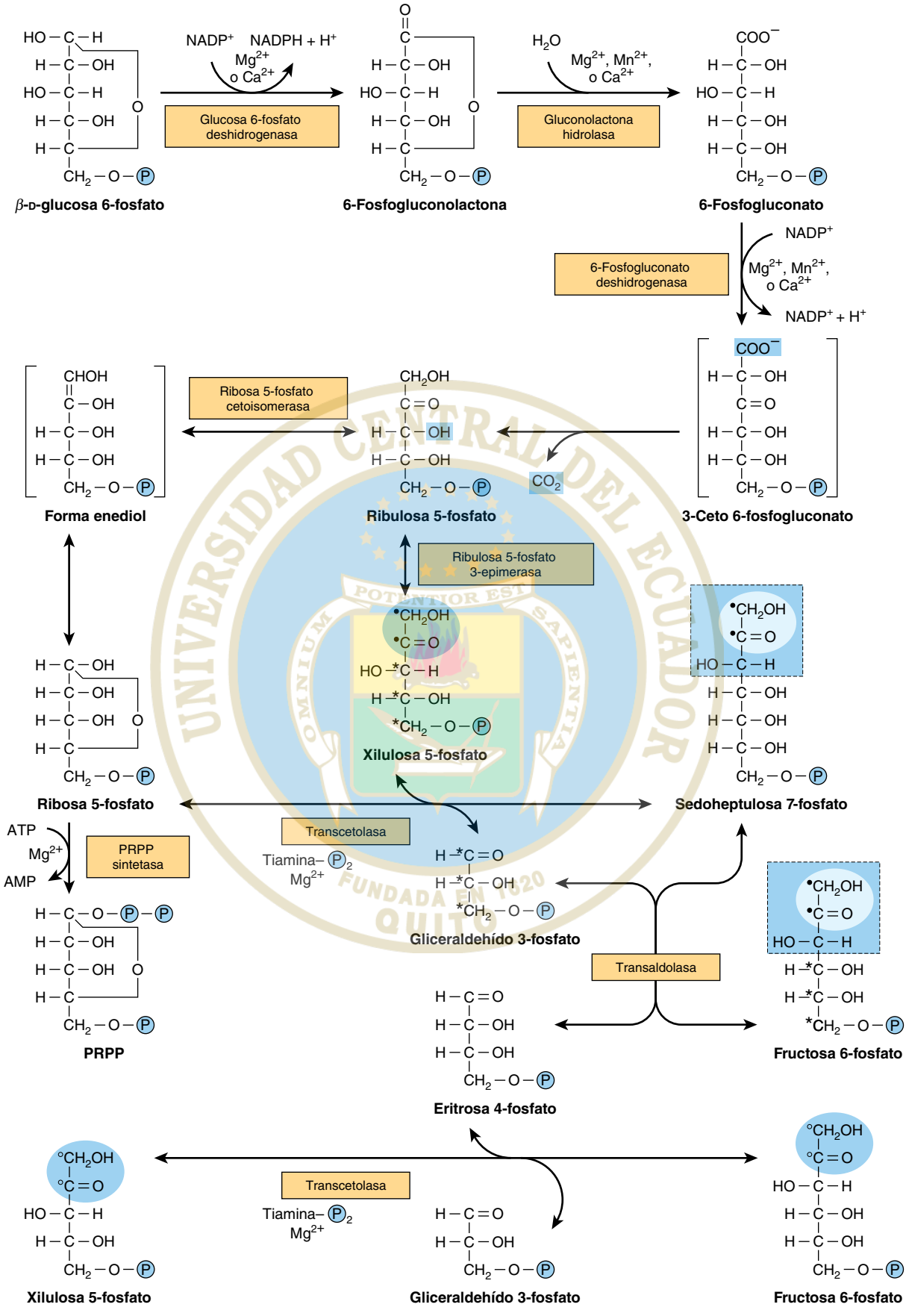


FIGURA 20-2 **La vía de la pentosa fosfato.** (P, — PO_3^{2-}; PRPP, 5-fosforribosil-1-pirofosfato).

Los tejidos en los cuales la vía es activa usan NADPH en síntesis reductivas, por ejemplo, de ácidos grasos, esteroides, aminoácidos mediante la glutamato deshidrogenasa y glutatión reducido. La síntesis de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa también puede ser inducida en el estado posprandial, cuando se incrementa la lipogénesis.

La ribosa puede sintetizarse en casi todos los tejidos

En el torrente sanguíneo circula poco o nada de ribosa, de modo que los tejidos deben sintetizar la ribosa que necesitan para la síntesis de nucleótido y ácido nucleico, mediante el uso de la vía de la pentosa fosfato (figura 20-2). No es necesario que la vía de la pentosa fosfato se realice por completo para que un tejido sintetice ribosa 5-fosfato. El músculo sólo tiene actividad baja de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa pero, al igual que casi todos los otros tejidos, tiene la capacidad para sintetizar ribosa 5-fosfato por medio de reversión de la fase no oxidativa de la vía de la pentosa fosfato mediante la utilización de fructosa 6-fosfato.

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO Y LA GLUTATIÓN PEROXIDASA PROTEGE A LOS ERITROCITOS CONTRA HEMÓLISIS

En los eritrocitos, la vía de la pentosa fosfato es la única fuente de NADPH para la reducción de glutatión oxidado, catalizada por la **glutatión reductasa**, una flavoproteína que contiene FAD. El glutatión reducido elimina H_2O_2 en una reacción catalizada por la **glutatión peroxidasa**, una enzima que contiene el análogo de cisteína con **selenio** (selenocisteína) en el sitio activo (**figura 20-3**). La reacción es importante, porque la acumulación de H_2O_2 puede aminorar la vida media del eritrocito a causa del daño oxidativo a la membrana celular, lo que conduce a hemólisis. En otros tejidos, el NADPH también puede ser generado por la reacción catalizada por la enzima málica.

EL GLUCURONATO, UN PRECURSOR DE PROTEOGLUCANOS Y DE CONJUGADOS GLUCURÓNIDOS, ES UN PRODUCTO DE LA VÍA DEL ÁCIDO URÓNICO

En el hígado, la **vía del ácido urónico** cataliza la conversión de glucosa a ácido glucurónico, ácido ascórbico (excepto en humanos y otras especies para las cuales el ascorbato es una vitamina, la vitamina C), y pentosas (**figura 20-4**). Asimismo, es una vía oxidativa alternativa para la glucosa que, al igual que la vía de la pentosa fosfato, no conduce a la formación de ATP. La glucosa 6-fosfato se isomeriza hacia glucosa 1-fosfato que, a su vez, reacciona con uridina trifosfato (UTP) para formar uridina difosfato de glucosa (UDPGlc) en una reacción catalizada por la **UDPGlc pirofosforilasa**, como ocurre en la síntesis de glucógeno (capítulo 18). La UDPGlc se oxida en el carbono 6 por la **UDPGlc deshidrogenasa** dependiente de NAD^+, en una reacción de dos pasos para producir UDP-glucuronato.

El UDP glucuronato es la fuente de glucuronato para reacciones que incluyen su incorporación hacia proteoglucanos (capítulo 46) o para reacciones que tienen como sustratos a hormonas esteroides, bilirrubina y diversos fármacos que se excretan en la orina o la bilis como conjugados glucurónido (figura 31-13, capítulo 47).

El glucuronato se reduce hacia L-gulonato, el precursor directo del **ascorbato** en los animales que tienen la capacidad para sintetizar esta vitamina, en una reacción dependiente de NADPH. Los humanos y otros primates, así como cobayos, murciélagos y algunas aves y peces, no pueden sintetizar ácido ascórbico debido a la falta de **L-gulonolactona oxidasa**. El L-gulonato se oxida hacia 3-ceto-L-gulonato, que después es descarboxilado hacia L-xilulosa. Esa L-xilulosa luego es convertida al isómero D por medio de una reacción de reducción dependiente del NADPH hacia xilitol, seguida por oxidación en una reacción dependiente de NAD^+ hacia D-xilulosa. Luego de la conversión en D-xilulosa 5-fosfato, es metabolizada por medio de la vía de la pentosa fosfato.

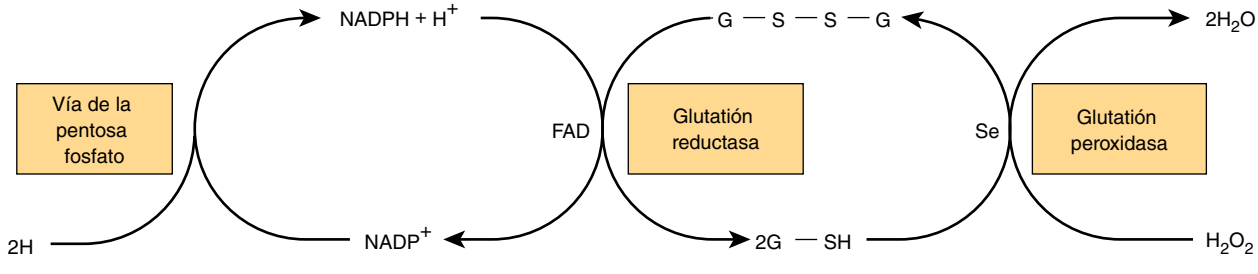


FIGURA 20-3 Función de la vía de la pentosa fosfato en la reacción de glutatión peroxidasa en eritrocitos. (G-SH, glutatión reducido; G-S-S-G, glutatión oxidado; Se, selenio contenido en la enzima).

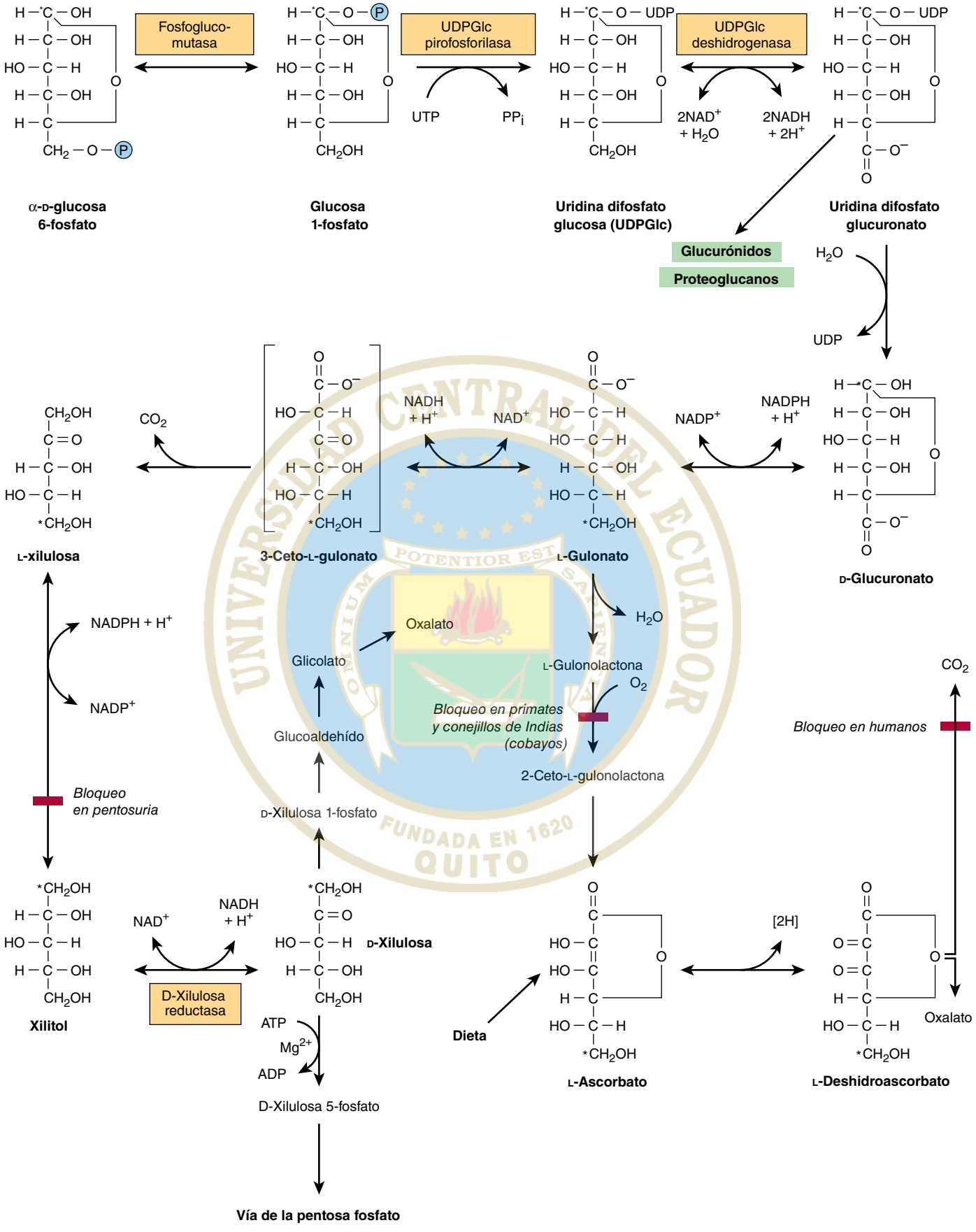


FIGURA 20-4 **Vía del ácido urónico.** (*Indica el destino del carbono 1 de la glucosa; —PO_3^{2-}).

LA INGESTA DE GRANDES CANTIDADES DE FRUCTOSA TIENE PROFUNDAS CONSECUENCIAS METABÓLICAS

Las dietas con alto contenido de sacarosa o de jarabes de alta-fructosa empleada en la elaboración de alimentos y bebidas conducen al ingreso de grandes cantidades de fructosa (y glucosa) a través de la vena porta hepática.

La fructosa sufre una glucólisis más rápida en el hígado que la glucosa, debido a que es un intermediario que regula el paso catalizado por la fosfofructocinasa (**figura 20-5**). Esto facilita el acceso a la fructosa contenida en los alimentos, ingresar a la vía en el hígado, lo que conduce a aumento de la síntesis y esterificación de ácidos grasos, y de la secreción de VLDL, lo que puede incrementar las cifras séricas de triacilgliceroles y, por último, a aumento de las concentraciones de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL). La **fructocinasa** cataliza la fosforilación de fructosa hacia fructosa 1-fosfato en hígado, riñones e intestino. Esta enzima no actúa sobre la glucosa y, a diferencia de la glucocinasa, su actividad no es afectada por el ayuno ni por la insulina, lo cual puede explicar por qué en diabéticos la fructosa es aclarada de la sangre a una tasa normal. La fructosa 1-fosfato es dividida para formar D-gliceraldehído y dihidroxiacetona fosfato mediante la **aldolasa B**, una enzima que se encuentra en el hígado, que también funciona en la glucólisis hepática para dividir a la fructosa 1,6-bisfosfato. El D-gliceraldehído entra a la glucólisis por medio de su fosforilación hacia gliceraldehído 3-fosfato catalizada por la **triocinasa**. Los dos triosa fosfatos, dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído 3-fosfato, pueden degradarse mediante glucólisis o ser sustratos para la aldolasa y, por tanto, para la gluconeogénesis, que es el destino de la mayoría de la fructosa que se metaboliza en el hígado.

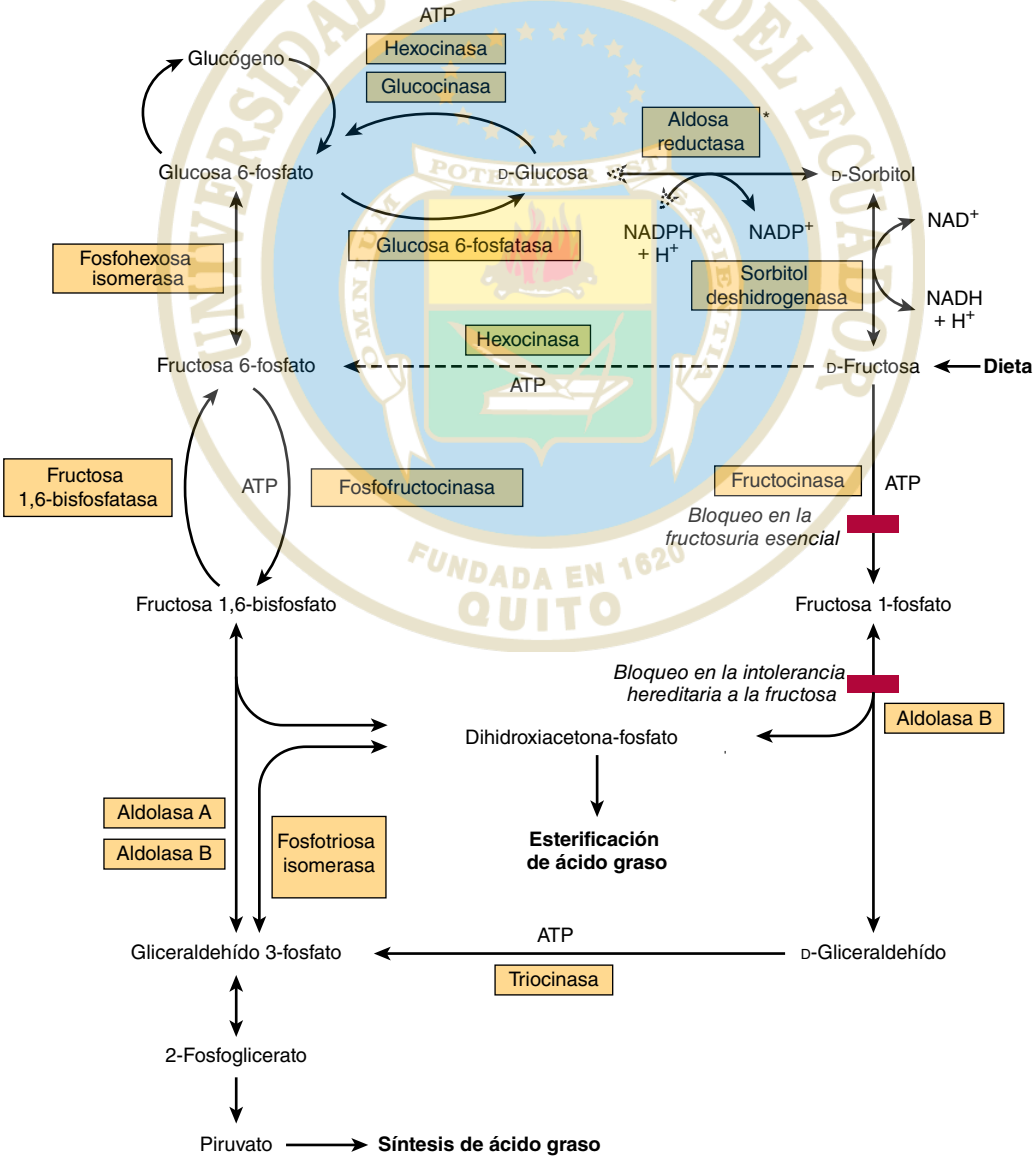


FIGURA 20-5 **Metabolismo de la fructosa.** La aldolasa A se encuentra en todos los tejidos, mientras que la aldolasa B es la forma predominante en el hígado. (*No se encuentra en el hígado).

En tejidos extrahepáticos, la hexocinasa cataliza la fosforilación de casi todos los azúcares hexosa, incluida la fructosa, pero la glucosa inhibe la fosforilación de la fructosa, debido a que es un mejor sustrato para la hexocinasa. Sin embargo, algo de fructosa puede metabolizarse en el tejido adiposo y el músculo. La fructosa se encuentra en el plasma seminal y en la circulación del feto de ungulados y ballenas. La aldosa reductasa se encuentra en la placenta de ovejas y se encarga de la secreción de sorbitol hacia la sangre fetal. La conversión de sorbitol en fructosa depende de la presencia de sorbitol deshidrogenasa en el hígado, incluso el hígado del feto. Esta vía también es la responsable de la presencia de fructosa en el líquido seminal.

LA GALACTOSA ES NECESARIA PARA LA SÍNTESIS DE LACTOSA, GLUCOLÍPIDOS, PROTEOGLUCANOS Y GLUCOPROTEÍNAS

La galactosa se deriva de la hidrólisis del disacárido **lactosa** en el intestino, es el azúcar de la leche. En el hígado es convertido con facilidad en glucosa. La **galactocinasa** cataliza la fosforilación de galactosa, mediante el uso de ATP como donador de fosfato (**figura 20-6**). La galactosa 1-fosfato reacciona con la uridina difosfato glucosa (UDPGlc) para formar uridina difosfato galactosa (UDPGal) y glucosa 1-fosfato, en una reacción catalizada por la **galactosa 1-fosfato uridil transferasa**. La conversión de UDPGal en UDPGlc es catalizada por la **UDPGal 4-epimerasa**. La reacción comprende la oxidación y enseguida una reducción, en el carbono 4, con NAD^+ como coenzima. La UDPGlc luego puede ser incorporada hacia el glucógeno (capítulo 18).

La reacción de la epimerasa es reversible, de modo que la glucosa puede convertirse en galactosa, así la galactosa no es un componente esencial de la dieta. La galactosa se requiere en el organismo no sólo para la formación de lactosa durante la lactación, sino también como un constituyente de glucolípidos (cerebrósidos), proteoglucanos y glucoproteínas. En la síntesis de lactosa en la glándula mamaria, la UDPGal se une con glucosa para dar lactosa, catalizada por la **lactosa sintasa** (figura 20-6).

La glucosa es el precursor de amino azúcares (hexosaminas)

Los amino azúcares son componentes importantes de las **glucoproteínas** (capítulo 46), y de ciertos **glucoesfingolípidos** (p. ej., gangliósidos; capítulo 21), y de **glucosaminoglucanos** (capítulo 50). Los principales amino azúcares son las hexosaminas **glucosamina**, **galactosamina** y **manosamina**, y el compuesto de nueve carbonos **ácido siálico.** El principal ácido siálico que se encuentra en tejidos humanos es el ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc). En la **figura 20-7** se resumen las interrelaciones metabólicas entre los amino azúcares.

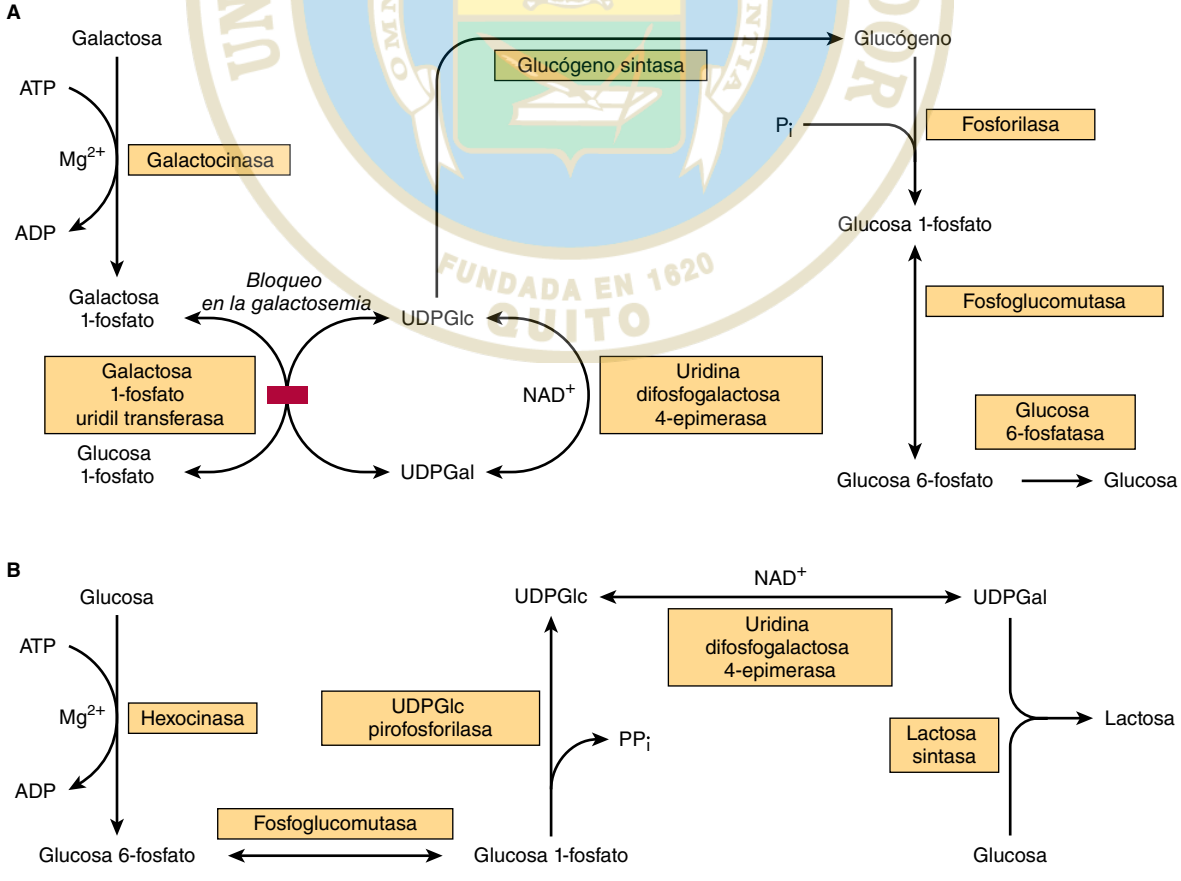


FIGURA 20-6 **Vía de conversión de (A) galactosa en glucosa en el hígado y (B) glucosa en lactosa en la glándula mamaria en lactación.**

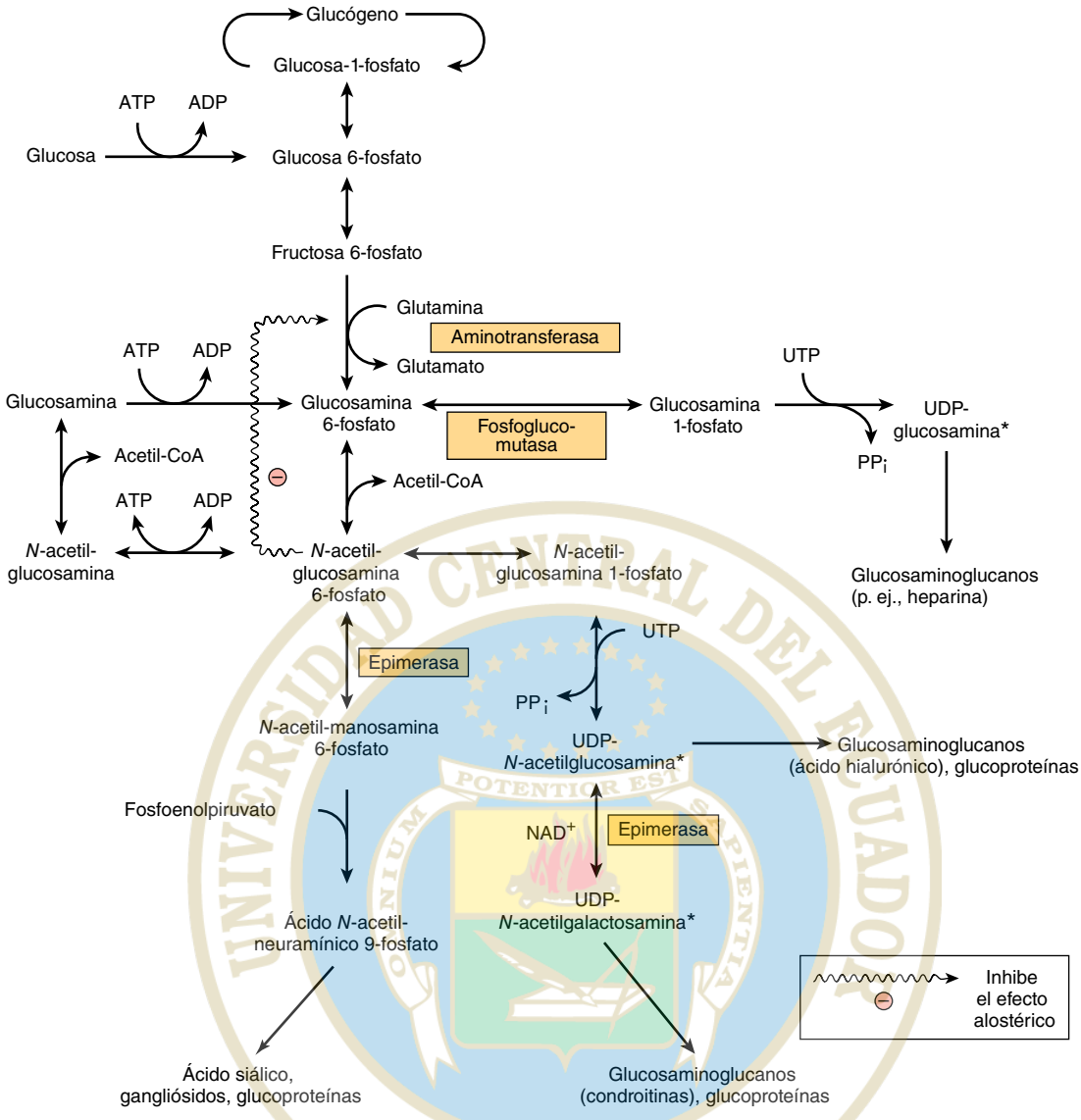


FIGURA 20-7 Resumen de las interrelaciones en el metabolismo de amino azúcares. (*Análogo para UDPGlc.) Otros nucleótidos de purina o pirimidina pueden estar asociados de modo similar a azúcares o amino azúcares. Como ejemplo se encuentra el difosfato de timidina (TDP)-glucosamina y el TDP-*N*-acetilglucosamina.

ASPECTOS CLÍNICOS

La alteración de la vía de la pentosa fosfato conduce a hemólisis

Los defectos genéticos de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, con deterioro consiguiente de la generación de NADPH, son frecuentes en poblaciones de origen mediterráneo y afrocaribeño. El gen está en el cromosoma X, de modo que los afectados son principalmente los varones. Alrededor de 400 millones de personas porta un gen mutado para la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, lo que hace que sea el defecto genético más frecuente, pero la mayoría es asintomática. En algunas poblaciones, la deficiencia de glucosa 6-fosfatasa es suficientemente común como para que se considere un polimorfismo genético. La distribución de los genes mutantes es paralela a la del paludismo, lo que sugiere que a las personas heterocigotas les confiere resistencia contra el paludismo. El defecto se manifiesta como lisis de eritrocitos (**anemia hemolítica**) cuando los pacientes susceptibles quedan sujetos a estrés oxidativo (capítulo 45) por infección, fármacos como el antipalúdico primaquina, y sulfonamidas, o cuando han comido habas (*Vicia fava*, de ahí el nombre de la enfermedad: **favismo**).

Se conocen muchas mutaciones diferentes en el gen que codifica para la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, lo que conduce a dos variantes principales de favismo. En la variante afrocaribeña la enzima es inestable, de manera que aun cuando las actividades promedio de los eritrocitos son bajas, el estrés oxidativo sólo afecta a los eritrocitos más viejos y las crisis hemolíticas tienden a ser autolimitadas; en contraste, en la variante del Mediterráneo la enzima es estable, pero tiene baja actividad en todos los eritrocitos. Las crisis hemolíticas en estas personas son más graves y pueden ser mortales. La glutatión peroxidasa es dependiente de un aporte de NADPH, que en los eritrocitos sólo puede for-

marse por medio de la vía de la pentosa fosfato, la cual reduce a los peróxidos orgánicos y al H_2O_2, como parte de la defensa del cuerpo contra peroxidación lipídica. La medición de la **glutatión reductasa** eritrocítica y su activación por FAD es utilizada para evaluar el estado nutricional de la **vitamina B_2** (capítulo 44).

La alteración de la vía del ácido urónico se produce por defectos enzimáticos y por algunos medicamentos

En la rara enfermedad hereditaria benigna **pentosuria esencial**, aparecen cantidades considerables de **L-xilulosa** en la orina, debido a falta de la enzima xilulosa recuctada, la enzima necesaria para reducir L-xilulosa hacia xilitol. Aunque la pentosuria es benigna y no genera consecuencias clínicas, la xilulosa es un azúcar reductor y puede dar resultados falsos positivos cuando se mide la glucosa urinaria mediante el uso de reactivos de cobre alcalinos (capítulo 48). Diversos fármacos aumentan la tasa a la cual la glucosa entra a la vía del ácido urónico. Por ejemplo, la administración de barbital o clorobutanol a ratas da como resultado un incremento importante de la conversión de glucosa en glucuronato, L-gulonato y ascorbato. La aminopirina y la antipirina aumentan la excreción de L-xilulosa en individuos pentosúricos. La pentosuria también se presenta después del consumo de grandes cantidades de frutas (como peras) que son fuentes ricas en pentosas (**pentosuria alimentaria**).

Cargar el hígado con fructosa puede potenciar la hipertriacilglicerolemia, hipercolesterolemia e hiperuricemia

En el hígado, la fructosa incrementa la síntesis de ácidos grasos y triacilglicerol, y la secreción de VLDL, lo que da pie a hipertriacilglicerolemia —e incremento del colesterol LDL—, que en potencia es aterogénico (capítulo 26). Esto se debe a que la fructosa entra a la glucólisis por medio de la fructocinasa, y la fructosa 1-fosfato resultante es el paso intermediario regulador catalizado por la fosfofructocinasa (capítulo 17). Más aún, la carga aguda al hígado con fructosa, como llega a suceder con la administración por vía intravenosa lenta o luego de ingestiones muy altas de fructosa, lo que causa secuestro de fosfato inorgánico en la fructosa 1-fosfato, y síntesis disminuida de ATP. Como resultado, hay menos inhibición de la síntesis de purina *de novo* por el ATP, y la formación de ácido úrico está aumentada, lo que origina hiperuricemia, que es la causa de la gota (capítulo 33). Dado que la fructosa se absorbe en el intestino delgado mediante difusión mediada por transportador (pasiva), las dosis altas por vía oral pueden llevar a diarrea osmótica.

Los defectos del metabolismo de la fructosa suscitan enfermedad

Una falta de fructocinasa hepática genera **fructosuria esencial**, que es una condición benigna y asintomática. La ausencia de aldolasa B, que divide a la fructosa 1-fosfato, lleva a **intolerancia hereditaria a la fructosa**, caracterizada por hipoglucemia profunda y vómitos después del consumo de fructosa (o de sacarosa, que genera fructosa en el momento de la digestión). Las dietas con bajo contenido de fructosa, sorbitol y sacarosa son beneficiosas para ambas enfermedades. Una consecuencia de la intolerancia hereditaria a la fructosa, y la condición relacionada como resultado de deficiencia de **fructosa 1,6-bisfosfatasa** es la **hipoglucemia** inducida por fructosa a pesar de la presencia de reservas altas de glucógeno, debido a que las fructosas 1-fosfato y 1,6 bisfosfato inhiben de modo alostérico a la glucógeno fosforilasa hepática. El secuestro de fosfato inorgánico también conduce a depleción de ATP e hiperuricemia.

La fructosa y el sorbitol en el cristalino se relacionan con catarata de origen diabético

En personas con diabetes mellitus hay concentraciones aumentadas tanto de fructosa como de sorbitol en el cristalino, que pueden estar implicadas en la patogenia de la **catarata diabética**. La formación de fructosa a partir de glucosa depende de la **vía del sorbitol (poliol)** (que no se encuentra en el hígado) (figura 20-5); la actividad de dicha vía se incrementa a medida que la concentración de glucosa aumenta en los tejidos que no son sensibles a la insulina, como el cristalino, los nervios periféricos y los glomérulos renales. La glucosa es reducida a sorbitol por la **aldosa reductasa**, seguida por la oxidación de sorbitol a fructosa en presencia de NAD^+ y sorbitol deshidrogenasa (poliol deshidrogenasa). El sorbitol formado en las células de estos tejidos no se difunde hacia el exterior de estas mismas a través de las membranas celulares, sino que se acumula en su interior, lo que causa daño osmótico. Al mismo tiempo, los niveles de mioinositol caen. En animales de experimentación, la acumulación de sorbitol y la disminución de mioinositol, así como las cataratas diabéticas, pueden ser prevenidas mediante inhibidores de la aldosa reductasa. En Japón se ha autorizado el uso de un inhibidor para el tratamiento de neuropatía diabética, aunque hay poca o ninguna evidencia de que los inhibidores sean eficaces para prevenir catarata o hacer más lenta la progresión de neuropatía diabética en humanos.

Las deficiencias de enzima en la vía de la galactosa causan galactosemia

En las **galactosemias** hay incapacidad para metabolizar galactosa, que pueden producirse por defectos hereditarios de galactocinasa, uridil transferasa, o 4-epimerasa (figura 20-6A), aunque la deficiencia de **uridil transferasa** es la mejor conocida. La galactosa es un sustrato para la aldosa reductasa, por lo que forma galactitol, que se acumula en el cristalino y del mismo modo ocasiona catarata. La condición es más grave si es resultado de un defecto de la uridil transferasa, dado que se acumula galactosa 1-fosfato y esto agota el fosfato inorgánico en el hígado. Con el tiempo sobrevienen insuficiencia hepática y deterioro mental. En la deficiencia de uridil transferasa, la epimerasa está presente en cantidades adecuadas, de tal manera que el paciente galactosémico aún puede formar UDPGal a partir de la glucosa. Esto explica cómo es posible que los niños afectados por esta deficiencia tengan un crecimiento y desarrollo normales aun y cuando se les prescriban dietas libres de galactosa usadas para controlar los síntomas de la enfermedad.

RESUMEN

- La vía de la pentosa fosfato que se efectúa en el citosol, puede explicar la oxidación completa de glucosa, produce NADPH y CO_2, pero no ATP.
- La vía tiene una fase oxidativa, que es irreversible y genera NADPH y una fase no oxidativa, que es reversible y proporciona precursores de ribosa para la síntesis de nucleótido. La vía completa se encuentra principalmente en los tejidos que tienen un requerimiento de NADPH para las síntesis reductivas, por ejemplo, lipogénesis o esteroidogénesis, mientras que la fase no oxidativa está presente en todas las células que requieren ribosa.
- En los eritrocitos, la vía tiene como función principal para la prevención de la hemólisis proporcionar $NADPH^+$ para mantener el glutatión en el estado reducido como sustrato para la glutatión peroxidasa.
- La vía del ácido urónico es la fuente de ácido glucurónico para conjugación de la mayoría de las sustancias endógenas y exógenas antes de su excreción como glucurónidos en la orina y la bilis.
- La fructosa es el intermediario del principal paso regulador en la glucólisis, catalizado por la fosfofructocinasa, y estimula la síntesis de ácidos grasos y la secreción hepática de triacilglicerol.
- La galactosa se sintetiza a partir de la glucosa en la glándula mamaria en lactación y en otros tejidos donde se necesita para la síntesis de glucolípidos, proteoglucanos y glucoproteínas.

REFERENCIAS

Ali M, Rellos P, Cox TM: Hereditary fructose intolerance. J Med Gen 1998;35:353.

Cappellini MD, Fiorelli G: Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. Lancet 2008;371:64.

Dunlop M: Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. Kidney Int 2000;77:S3.

Grant CM: Metabolic reconfiguration is a regulated response to oxidative stress. J Biol 2008;7:1.

Ho HY, Cheng ML: Glucose-6-phosphate dehydrogenase—from oxidative stress to cellular functions and degenerative diseases. Redox Rep 2007;12:109.

Horecker BL: The pentose phosphate pathway. J Biol Chem 2002;277:47965.

Le KA, Tappy L: Metabolic effects of fructose. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2006;9:469.

Leslie ND: Insights into the pathogenesis of galactosemia. Ann Rev Nutr 2003;23:59.

Manganelli G, Fico A, Martini G, *et al*: Discussion on pharmacogenetic interaction in G6PD deficiency and methods to identify potential hemolytic drugs. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets 2010;10:143.

Mayes PA: Intermediary metabolism of fructose. Amer J Clin Nutr 1993;58:754.

Van den Berghe G: Inborn errors of fructose metabolism. Ann Rev Nutr 1994;14:41.

Veech RL: A humble hexose monophosphate pathway metabolite regulates short- and long-term control of lipogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:5578.

Wamelink MM, Struys EA, Jakobs C: The biochemistry, metabolism and inherited defects of the pentose phosphate pathway: a review. J Inherit Metab Dis 2008;31:703.

Wong D: Hereditary fructose intolerance. Mol Genet Metab 2005;85:165.

Preguntas de examen

Sección IV —Metabolismo de los carbohidratos

1. ¿Cuál de las que siguen es una definición del índice glucémico?
   A. La disminución de la concentración sanguínea de glucagón después de consumir el alimento, comparada con una cantidad equivalente de pan blanco.
   B. El aumento de la concentración sanguínea de glucosa después de consumir el alimento.
   C. El aumento de la concentración sanguínea de glucosa después del consumo de alimento, comparado con una cantidad equivalente de pan blanco.
   D. El aumento de la concentración sanguínea de insulina después de consumir el alimento.
   E. El aumento de la concentración sanguínea de insulina después de consumir el alimento, comparado con una cantidad equivalente de pan blanco.

2. ¿Cuál de los que siguen tendría el índice glucémico más bajo?
   A. Una manzana horneada.
   B. Una papa horneada.
   C. Una manzana cruda.
   D. Una papa cruda.
   E. Jugo de manzana.

3. ¿Cuál de los que siguen tendría el índice glucémico más alto?
   A. Una manzana horneada.
   B. Una papa horneada.
   C. Una manzana cruda.
   D. Una papa cruda.
   E. Jugo de manzana.

4. Se tomó una muestra de sangre a una mujer de 50 años de edad después de una noche de ayuno. ¿Cuál de los siguientes estará en una concentración más alta después de que la mujer haya consumido una comida?
   A. Glucosa.
   B. Insulina.
   C. Cuerpos cetónicos.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Triacilglicerol.

5. Se tomó una muestra de sangre a un hombre de 25 años de edad después de que comió tres rebanadas de pan tostado y un huevo duro (cocido). ¿Cuál de los siguientes estará en una concentración más alta que si la muestra de sangre se hubiera tomado después de una noche de ayuno?
   A. Alanina.
   B. Glucagón.
   C. Glucosa.
   D. Cuerpos cetónicos.
   E. Ácidos grasos no esterificados.

6. Se tomó una muestra de sangre de un varón de 40 años de edad que ha estado de ayuno absoluto durante una semana, y que sólo bebió agua. ¿Cuál de los siguientes estará en mayor concentración que después de una noche de ayuno normal?
   A. Glucosa.
   B. Insulina.
   C. Cuerpos cetónicos.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Triacilglicerol.

7. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los estados metabólicos posprandial y de ayuno es correcta?
   A. En el estado de ayuno el glucagón actúa mediante el aumento de la actividad de la lipoproteína lipasa en el tejido adiposo.
   B. En el estado de ayuno, el glucagón actúa mediante el aumento de la síntesis de glucógeno a partir de glucosa.
   C. En el estado posprandial la insulina actúa mediante el aumento de la degradación de glucógeno para mantener los niveles de glucosa en sangre.
   D. En el estado posprandial existe una secreción disminuida de insulina en respuesta al incremento de la glucosa en la sangre portal.
   E. En el estado de ayuno se sintetizan cuerpos cetónicos en el hígado, y la cantidad sintetizada aumenta conforme el ayuno se extiende hacia inanición.

8. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los estados metabólicos posprandial y de ayuno es correcta?
   A. En el estado posprandial el músculo puede captar glucosa para su uso como un combustible metabólico, porque el transporte de glucosa en el músculo es estimulado en respuesta a glucagón.
   B. En el estado posprandial existe secreción disminuida de glucagón en respuesta al aumento de la glucosa en la sangre portal.
   C. En el estado posprandial el glucagón actúa mediante el aumento de la síntesis de glucógeno a partir de glucosa.
   D. La glucosa plasmática es mantenida durante la inanición y el ayuno prolongado, por medio de gluconeogénesis a partir de cuerpos cetónicos.
   E. En el estado de ayuno existe un incremento del índice metabólico.

9. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los estados metabólicos posprandial y de ayuno es correcta?
   A. En el estado de ayuno el músculo sintetiza glucosa a partir de aminoácidos.
   B. En el estado posprandial el tejido adiposo puede captar glucosa para la síntesis de triacilglicerol porque el transporte de glucosa en el tejido adiposo es estimulado en respuesta al glucagón.

C. En el estado de ayuno se sintetizan cuerpos cetónicos en el músculo, y la cantidad sintetizada aumenta conforme el ayuno se extiende hacia inanición.
D. Los cuerpos cetónicos proporcionan un combustible alternativo para los eritrocitos en el estado de ayuno.
E. En la inanición y en el ayuno prolongado la glucosa plasmática es mantenida mediante gluconeogénesis a partir de ácidos grasos.

10. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los estados metabólicos posprandial y de ayuno es correcta?
A. En el estado de ayuno el tejido adiposo sintetiza glucosa a partir del glicerol liberado por la degradación de triacilglicerol.
B. En el estado de ayuno el tejido adiposo sintetiza cuerpos cetónicos.
C. En el estado de ayuno el principal combustible para los eritrocitos son los ácidos grasos liberados a partir del tejido adiposo.
D. Los cuerpos cetónicos proporcionan el principal combustible para el sistema nervioso central en el estado de ayuno.
E. En la inanición y en el ayuno prolongado la glucosa plasmática es mantenida mediante gluconeogénesis en el hígado a partir de los aminoácidos liberados por la degradación de la proteína muscular.

11. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los estados metabólicos posprandial y de ayuno es correcta?
A. En el estado de ayuno se sintetizan ácidos grasos y triacilglicerol en el hígado.
B. En el estado de ayuno el principal combustible para el sistema nervioso central son ácidos grasos liberados por el tejido adiposo.
C. En el estado de ayuno el principal combustible metabólico para casi todos los tejidos proviene de los ácidos grasos liberados por el tejido adiposo.
D. En el estado posprandial el músculo no puede captar glucosa para uso como un combustible metabólico porque el transporte de glucosa en el músculo es estimulado en respuesta a glucagón.
E. En la inanición y en el ayuno prolongado la glucosa plasmática es mantenida mediante gluconeogénesis en el tejido adiposo a partir del glicerol liberado del triacilglicerol.

12. Un varón de 25 años de edad visita a su médico y manifiesta sufrir cólicos abdominales y diarrea después de beber leche. ¿Cuál es la causa más probable de este problema?
A. Crecimiento excesivo de bacterias y de levaduras en el intestino grueso.
B. Infección por el parásito intestinal *Giardia lamblia.*
C. Carencia de amilasa pancreática.
D. Falta de lactasa en el intestino delgado.
E. Carencia de sacarasa-isomaltasa en el intestino delgado.

13. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de la glucólisis y de la gluconeogénesis es correcta?
A. Todas las reacciones de la glucólisis son libremente reversibles para gluconeogénesis.
B. La fructosa no puede usarse para la gluconeogénesis en el hígado porque no puede fosforilarse a fructosa-6-fosfato.
C. La glucólisis se puede mantener en ausencia de oxígeno sólo si el piruvato se forma a partir de lactato en el músculo.
D. Los eritrocitos sólo metabolizan glucosa a través de la glucólisis anaeróbica (y a través de la vía de la pentosa fosfato).
E. El proceso inverso de la glucólisis es la vía para la gluconeogénesis en el músculo esquelético.

14. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del paso en la glucólisis catalizado por la hexocinasa, y en la gluconeogénesis por la glucosa 6-fosfatasa es correcta?
A. Dado que la hexocinasa tiene una K_m baja, su actividad en el hígado aumenta conforme lo hace la concentración de glucosa en la sangre portal.
B. La glucosa-6-fosfatasa es principalmente activa en el músculo en el estado de ayuno.
C. Si la hexocinasa y la glucosa-6-fosfatasa son igualmente activas al mismo tiempo, hay formación neta de ATP a partir de ADP y fosfato.
D. El hígado contiene una isoenzima de hexocinasa, la glucocinasa, que es especialmente importante en el estado posprandial.
E. En el estado de ayuno, el músculo puede liberar glucosa hacia la circulación gracias a sus reservas de glucógeno.

15. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del paso en la glucólisis catalizado por fosfofructocinasa, y en la gluconeogénesis por la fructosa 1,6-bisfosfatasa es correcta?
A. La fructosa 1,6-bisfosfatasa es principalmente activa en el hígado en el estado posprandial.
B. La fructosa 1,6-bisfosfatasa es principalmente activa en el hígado en el estado de ayuno.
C. Si la fosfofructocinasa y la fructosa 1,6-bisfosfatasa son igualmente activas al mismo tiempo, existe una formación neta de ATP a partir de ADP y fosfato.
D. La fosfofructocinasa es inhibida de manera más o menos completa por la concentración fisiológica de ATP.
E. La fosfofructocinasa es principalmente activa en el hígado en el estado de ayuno.

16. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del metabolismo de la glucosa durante esfuerzo máximo es correcta?
A. La gluconeogénesis a partir de lactato requiere de menos ATP del que se forma en la glucólisis anaeróbica.
B. Durante esfuerzo máximo, el piruvato es oxidado a lactato en el músculo.
C. La deuda de oxígeno es causada por la necesidad de exhalar dióxido de carbono producido en respuesta a acidosis.
D. La deuda de oxígeno refleja la necesidad de reemplazar oxígeno que ha sido usado en el músculo durante ejercicio vigoroso.
E. Hay acidosis metabólica como resultado de ejercicio vigoroso.

17. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones es correcta?
A. La glucosa-1-fosfato puede ser hidrolizada para producir glucosa libre en el hígado.
B. La glucosa-6-fosfato puede formarse a partir de glucosa, pero no a partir de glucógeno.
C. En el hígado, la glucosa-6-fosfato no puede ser convertida en glucosa 1-fosfato.

D. La glucosa-6-fosfato se forma a partir de glucógeno por acción de la enzima glucógeno fosforilasa.
E. En el hígado y en los eritrocitos, la glucosa-6-fosfato puede entrar a la glucólisis o a la vía de la pentosa fosfato.

18. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del complejo multienzimático piruvato deshidrogenasa es correcta?
A. En la deficiencia de tiamina (vitamina B_1), el piruvato formado en el músculo no puede ser transaminado a alanina.
B. En la deficiencia de tiamina (vitamina B_1), el piruvato formado en el músculo no puede ser carboxilado a oxaloacetato.
C. La reacción de la piruvato deshidrogenasa consiste en la descarboxilación y oxidación de piruvato, para formar después de acetil CoA.
D. La reacción de la piruvato deshidrogenasa es fácilmente reversible, de modo que la acetil CoA puede utilizarse para la síntesis de piruvato y, por ende, de glucosa.
E. La reacción de la piruvato deshidrogenasa conduce a la oxidación de NADH a NAD^+ y, por ende, a la formación de ~2.5 × ATP por cada mol de piruvato oxidado.

19. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de la vía de la pentosa fosfato es correcta?
A. En el favismo los eritrocitos son más susceptibles al estrés oxidativo debido a la carencia de $NADPH^+$ para la síntesis de ácidos grasos.
B. Las personas que carecen de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa no pueden sintetizar ácidos grasos debido a la carencia de $NADPH^+$ en el hígado y en el tejido adiposo.
C. La vía de la pentosa fosfato es especialmente importante en tejidos que sintetizan ácidos grasos.
D. La vía de la pentosa fosfato es la única fuente de $NADPH^+$ para la síntesis de ácidos grasos.
E. La vía de la pentosa fosfato proporciona una alternativa para la glucólisis sólo en el estado de ayuno.

20. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del metabolismo del glucógeno es correcta?
A. El glucógeno es sintetizado en el hígado en el estado posprandial, y después exportado a otros tejidos en lipoproteínas de baja densidad.
B. Las reservas de glucógeno en el hígado y el músculo satisfarán los requerimientos de energía durante varios días en ayuno prolongado.
C. El hígado sintetiza más glucógeno cuando la concentración de glucosa en la sangre portal hepática es alta debido a la actividad de glucocinasa en el hígado.
D. El músculo sintetiza glucógeno durante el estado posprandial porque la glucógeno fosforilasa es activada en respuesta a la insulina.
E. La concentración plasmática de glucógeno aumenta en el estado posprandial.

21. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de la gluconeogénesis es correcta?
A. Dado que los ácidos grasos forman acetil CoA, pueden ser un sustrato para la gluconeogénesis.
B. Si el oxaloacetato se extrae del ciclo del ácido cítrico para gluconeogénesis, entonces puede ser reemplazado por la acción de la piruvato deshidrogenasa.
C. La reacción de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa es importante para reabastecer el fondo común (poza) de intermediarios del ciclo del ácido cítrico.
D. El uso de GTP como el donador de fosfato en la reacción de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa establece una asociación entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y la gluconeogénesis.
E. Existe una mayor producción de ATP en la glucólisis anaeróbica que el costo de la síntesis de glucosa a partir de lactato.

22. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del metabolismo de carbohidratos es correcta?
A. Un paso clave en la biosíntesis de glucógeno es la formación de UDP-glucosa.
B. El glucógeno puede ser degradado a glucosa-6-fosfato en el músculo, que a continuación libera glucosa libre mediante la acción de la enzima glucosa-6-fosfatasa.
C. El glucógeno es almacenado principalmente en el hígado y el cerebro.
D. La insulina inhibe la biosíntesis de glucógeno.
E. La fosforilasa cinasa es una enzima que fosforila la enzima glucógeno fosforilasa y, así, disminuye la degradación de glucógeno.

23. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del metabolismo del glucógeno es correcta?
A. La actividad de la glucógeno sintasa es aumentada por el glucagón.
B. La glucógeno fosforilasa es una enzima que puede ser activada por fosforilación de residuos de serina.
C. La glucógeno fosforilasa no puede ser activada por iones de calcio.
D. El cAMP activa la síntesis de glucógeno.
E. La glucógeno fosforilasa rompe los enlaces α1-4 glucosídicos mediante hidrólisis.

24. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del metabolismo de la glucosa es correcta?
A. El glucagón aumenta la tasa de glucólisis.
B. La glucólisis requiere $NADP^+$.
C. En la glucólisis, la glucosa es dividida en dos compuestos de tres carbonos.
D. La fosforilación a nivel de sustrato tiene lugar en el sistema de transporte de electrones.
E. El principal producto de la glucólisis en los eritrocitos es el piruvato.

25. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del metabolismo de azúcares es correcta?
A. La fructocinasa fosforila la fructosa a fructosa-6-fosfato.
B. La fructosa es un azúcar aldosa como la glucosa.
C. El transporte de fructosa hacia las células es dependiente de insulina.
D. La galactosa es fosforilada a galactosa-1-fosfato por la galactocinasa.
E. La sacarosa puede biosintetizarse en el hígado, a partir de glucosa y fructosa.

26. En la glucólisis, la conversión de 1 mol de fructosa 1,6-bisfosfato a 2 mol de piruvato resulta en la formación de:
    A. 1 mol de NAD^+ y 2 mol de ATP.
    B. 1 mol de NADH y 1 mol de ATP.
    C. 2 mol de NAD^+ y 4 mol de ATP.
    D. 2 mol de NADH y 2 mol de ATP.
    E. 2 mol de NADH y 4 mol de ATP.

27. ¿Cuál de los siguientes sustratos proporcionará el principal combustible para la contracción muscular durante el esfuerzo máximo a corto plazo?
    A. Glucógeno muscular.
    B. Reservas musculares de triacilglicerol.
    C. Glucosa plasmática.
    D. Ácidos grasos no esterificados plasmáticos.
    E. Triacilglicerol en lipoproteínas de muy baja densidad plasmáticas.

28. El disacárido lactulosa no es digerido, no obstante, es fermentado por las bacterias intestinales para producir 4 moles de lactato y 4 protones. El amonio (NH_4^+) se encuentra en equilibrio con el amoniaco (NH_3) en el plasma. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones explica mejor cómo actúa la lactulosa en el tratamiento de la hiperamonemia (elevada concentración sanguínea de amonio)?
    A. La fermentación de la lactulosa incrementa el ácido en la corriente sanguínea tanto que existe más amonio y menos amoniaco disponible para atravesar la pared intestinal.
    B. La fermentación de la lactulosa resulta en acidificación del contenido intestinal tanto que el amoniaco difunde desde la corriente sanguínea hacia el intestino y es atrapado como amonio que no puede regresar.
    C. La fermentación de la lactulosa resulta en acidificación del contenido intestinal tanto que el amoniaco producido por las bacterias intestinales es atrapado como amonio que no puede difundir hacia la corriente sanguínea.
    D. La fermentación de la lactulosa resulta en un incremento ocho veces mayor en osmolalidad del contenido intestinal tanto que existe más agua para la dilución del amonio y amoniaco, para que se absorba menos hacia la corriente sanguínea.
    E. La fermentación de la lactulosa resulta en un incremento ocho veces mayor en osmolalidad del contenido intestinal para que exista más agua para la dilución del amoniaco y amonio de tal manera que difundirá desde la corriente sanguínea hacia el intestino.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN V

Metabolismo de lípidos

CAPÍTULO 21

Lípidos importantes desde el punto de vista fisiológico

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Definir los lípidos simples y complejos, e identificar las clases de lípidos en cada grupo.
- Indicar la estructura de ácidos grasos saturados e insaturados, explicar cómo la longitud y el grado de insaturación de la cadena influyen sobre su punto de fusión, dar ejemplos, y explicar la nomenclatura.
- Entender la diferencia entre los dobles enlaces carbono-carbono *cis* y *trans*.
- Describir cómo los eicosanoides se forman por modificación de la estructura de ácidos grasos insaturados; identificar las diversas clases de eicosanoides, e indicar sus funciones.
- Describir la estructura general de triacilgliceroles, e indicar su función.
- Describir la estructura general de los fosfolípidos y glucoesfingolípidos, e indicar las funciones de las diferentes clases.
- Apreciar la importancia del colesterol como el precursor de muchos esteroides de importancia biológica, entre ellos hormonas esteroides, ácidos biliares y vitaminas D.
- Reconocer el núcleo cíclico común a todos los esteroides, y explicar la diferencia entre las formas "silla" y "bote" de los anillos de seis carbonos, y que los anillos pueden ser *cis* o *trans* en relación uno con otro, lo que hace que sean posibles muchos estereoisómeros.
- Explicar por qué los radicales libres son perjudiciales para los tejidos, e identificar las tres etapas en la reacción en cadena de peroxidación lipídica que los produce de manera continua.
- Entender cómo los antioxidantes protegen los lípidos contra peroxidación la iniciación de la cadena o inducir el rompimiento de la misma, y dar ejemplos fisiológicos y no fisiológicos.
- Entender que muchas moléculas lipídicas son anfipáticas, que tienen grupos tanto hidrofóbicos como hidrofílicos en su estructura, y explicar cómo esto influye sobre su comportamiento en un ambiente acuoso y permite que ciertas clases, incluyendo fosfolípidos, esfingolípidos y colesterol, formen la estructura básica de las membranas biológicas.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
FUNDADA EN 1826

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los lípidos son un grupo de compuestos heterogéneo, que incluye grasas, aceites, esteroides, ceras y compuestos relacionados más por sus propiedades físicas que por sus propiedades químicas. Tienen la propiedad común de ser: 1) relativamente **insolubles en agua** y 2) **solubles en solventes no polares**, como éter y cloroformo. Son constituyentes importantes de la dieta no sólo debido al alto valor energético de las grasas, sino también porque los ácidos grasos esenciales y las **vitaminas liposolubles** y otros micronutrientes lipofílicos están contenidos en la grasa de los alimentos naturales. Se cree que los complementos de la dieta con **ácidos grasos ω3 de cadena larga** tienen efectos beneficiosos en diversas enfermedades crónicas, entre ellas enfermedad cardiovascular, artritis reumatoide y demencia. La grasa se almacena en el **tejido adiposo,** donde también sirve como un aislante térmico en los tejidos subcutáneos y alrededor de ciertos órganos. Los lípidos no polares actúan como **aislantes eléctricos** y permiten la propagación rápida de ondas de despolarización a lo largo de **nervios mielinizados.** Los lípidos son transportados en la sangre, combinados con proteínas en partículas de **lipoproteína** (capítulos 25 y 26). Los lípidos tienen funciones esenciales en la nutrición y la salud, y el conocimiento de la bioquímica de los lípidos es necesario para entender muchas enfermedades biomédicas importantes, entre ellas **obesidad**, **diabetes mellitus** y **aterosclerosis**.

LOS LÍPIDOS SE CLASIFICAN COMO SIMPLES O COMPLEJOS

1. **Lípidos simples:** Incluyen grasas y ceras como ésteres de ácidos grasos con diversos alcoholes.
   a. **Grasas:** ésteres de ácidos grasos con glicerol. Los **aceites** son grasas en el estado líquido.
   b. **Ceras:** ésteres de ácidos grasos con alcoholes monohídricos de masa molecular relativa (peso molecular) más alta.
2. Los **lípidos complejos** son ésteres de ácidos grasos que contienen grupos además de un alcohol y uno o más ácidos grasos. Pueden dividirse en tres grupos:
   a. **Fosfolípidos:** lípidos que contienen, además de ácidos grasos y un alcohol, un residuo de ácido fosfórico. Frecuentemente tienen bases que contienen nitrógeno (p. ej., colina) y otros sustituyentes. En muchos fosfolípidos, el alcohol es glicerol **(glicerofosfolípidos),** pero en los **esfingofosfolípidos** es esfingosina, que contiene un grupo amino.
   b. **Glucolípidos (glucoesfingolípidos):** lípidos que contienen un ácido graso, esfingosina y carbohidrato.
   c. **Otros lípidos complejos:** lípidos como sulfolípidos y aminolípidos. Las lipoproteínas también pueden colocarse en esta categoría.
3. **Lípidos precursores y derivados:** comprenden ácidos grasos, glicerol, esteroides, otros alcoholes, aldehídos grasos, cuerpos cetónicos (capítulo 22), hidrocarburos, vitaminas liposolubles y hormonas.

Dado que no tienen carga, los acilgliceroles (glicéridos), el colesterol y los ésteres de colesterol se llaman **lípidos neutrales**.

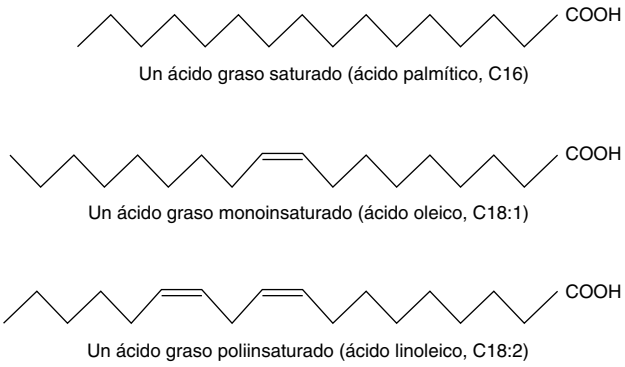


FIGURA 21-1 Ácidos grasos. Se muestran ejemplos de un ácido graso saturado (ácido palmítico), monoinsaturado (ácido oleico) y poliinsaturado (ácido linoleico).

LOS ÁCIDOS GRASOS SON ÁCIDOS CARBOXÍLICOS ALIFÁTICOS

Los ácidos grasos se encuentran en el cuerpo principalmente como ésteres en grasas y aceites naturales, pero existen en la forma no esterificada como **ácidos grasos libres**, una forma de transporte en el plasma. Los ácidos grasos que se hallan en grasas naturales por lo general contienen un número par de átomos de carbono. La cadena puede ser **saturada** (que no contiene dobles enlaces) o **insaturada** (que contiene uno o más dobles enlaces) (**figura 21-1**).

Los ácidos grasos se denominan con base en los hidrocarburos correspondientes

La nomenclatura sistemática de uso más frecuente denomina al ácido graso con base en el hidrocarburo con el mismo nombre y ordenamiento de átomos de carbono; la **-e** final se sustituye por **-oico** (sistema ginebra). De este modo, los ácidos saturados terminan en **-anoico**, por ejemplo, ácido octanoico (C8), y los ácidos grasos insaturados con dobles enlaces terminan en **-enoico,** por ejemplo, ácido octadecenoico (ácido oleico, C18).

Los átomos de carbono se numeran desde el carbono carboxilo (carbono núm. 1). Los átomos de carbono adyacentes al carbono carboxilo (núms. 2, 3 y 4) también se conocen como los carbonos α, β y γ, respectivamente, y el carbono metilo terminal recibe el nombre de carbono ω o n.

En diversas fuentes se usa Δ para indicar el número y la posición de los dobles enlaces (**figura 21-2**); por ejemplo, Δ^9 indica un doble enlace entre los carbonos 9 y 10 del ácido graso; ω9 denota un doble enlace en el noveno carbono contando desde el carbono ω. En animales, dobles enlaces adicionales sólo se introducen entre el doble enlace existente (p. ej., ω9, ω6 u ω3) y el carbono carboxilo, lo que conduce a tres series de ácidos grasos conocidos como las **familias ω9**, **ω6** y **ω3**, respectivamente.

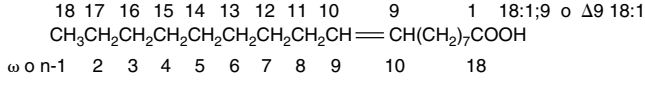


FIGURA 21-2 Nomenclatura para el número y la posición de dobles enlaces en ácidos grasos insaturados. Se ilustra usando el ácido oleico como un ejemplo. *n*-9 es equivalente a ω9.

Los ácidos grasos saturados no contienen dobles enlaces

Los ácidos grasos saturados pueden imaginarse como basados en ácido acético (CH_3—COOH) como el primer miembro de la serie en la cual se agrega de manera progresiva —CH_2— entre los grupos CH_3— y —COOH terminales. En el **cuadro 21-1** se muestran ejemplos. Se sabe que existen otros miembros más altos de la serie, sobre todo en ceras. Algunos ácidos grasos de cadena ramificada también se han aislado a partir de fuentes tanto vegetales como animales.

Los ácidos grasos insaturados contienen uno o más dobles enlaces

Los ácidos grasos insaturados (figura 21-1, **cuadro 21-2**) pueden subdividirse como sigue:

1. Ácidos **monoinsaturados** (monoetenoide, monoenoico) que contienen un doble enlace.
2. Ácidos **poliinsaturados** (polietenoide, polienoico), que contienen dos o más dobles enlaces.
3. **Eicosanoides:** estos compuestos, derivados de ácidos grasos polienoicos eicosa (20 carbonos) (capítulo 23), incluyen **prostanoides**, **leucotrienos (LT)** y **lipoxinas (LX)**. Los prostanoides comprenden **prostaglandinas (PG)**, **prostaciclinas (PGI)** y **tromboxanos (TX)**.

Las **prostaglandinas** existen en casi todos los tejidos de mamíferos y actúan como hormonas locales; tienen importantes actividades fisiológicas y farmacológicas. Se sintetizan *in vivo* por medio de ciclización del centro de la cadena de carbono de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos (eicosanoicos) (p. ej., ácido araquidónico) para formar un anillo ciclopentano (**figura 21-3**). Una serie relacionada de compuestos, los **tromboxanos**, tiene el anillo ciclopentano interrumpido con un átomo de oxígeno (anillo oxano) (**figura 21-4**). Tres diferentes ácidos grasos eicosanoicos dan lugar a tres grupos de eicosanoides caracterizados por el número de dobles enlaces en las cadenas laterales (figura 23-12), por ejemplo, prostaglandinas $(PG)_1$, PG_2 y PG_3. Diferentes grupos sustituyentes fijos a los anillos dan origen a series de prostaglandinas y tromboxanos, que se marcan como A, B, etc. (figura 23-13); por ejemplo, el tipo "E" de prostaglandina (como en la PGE_2) tiene un grupo ceto en la posición 9, mientras que el tipo "F" tiene un grupo hidroxilo en esta posición. Los **leucotrienos** y las **lipoxinas** (**figura 21-5**) son un tercer grupo de derivados eicosanoides formados mediante la **vía de la lipooxigenasa** (figura 23-14). Se caracterizan por la presencia de 3 o 4 dobles enlaces conjugados, respectivamente. Los leucotrienos causan broncoconstricción; son potentes agentes proinflamatorios y están implicados en el **asma**.

CUADRO 21-1 Ácidos grasos saturados

Nombre común	Número de átomos de C	Ocurrencia
Acético	2	Principal producto terminal de la fermentación de carbohidrato por organismos del rumen
Butírico	4	En ciertas grasas en cantidades pequeñas (en especial mantequilla). Un producto terminal de la fermentación de carbohidratos por organismos del rumen[1]
Valérico	5	
Caproico	6	
Láurico	12	Espermaceti (esperma de ballena); aceites de canela, palmiste y coco; laureles, mantequilla
Mirístico	14	Aceites de nuez moscada, palmiste y coco, mirtos, mantequilla
Palmítico	16	Común en todas las grasas de animales y vegetales
Esteárico	18	

[1] También se forma en el ciego de herbívoros y en menor grado en el colon de seres humanos.

Casi todos los ácidos grasos insaturados naturales tienen dobles enlaces *cis*

Las cadenas de carbono de ácidos grasos saturados forman un modelo en zigzag cuando se extienden a temperaturas bajas (figura 21-1). A temperaturas más altas, algunos enlaces rotan, lo que da por resultado acortamiento de la cadena; ello explica por qué las biomembranas se hacen más delgadas con los aumentos de la temperatura. En los ácidos grasos insaturados se observa un tipo de **isomerismo geométrico**, según la orientación de átomos o grupos alrededor de los ejes de dobles enlaces, que impiden la rotación. Si las cadenas acilo están en el mismo lado del enlace, es *cis*-, como en el ácido oleico; si están en lados opuestos, es *trans*-, como en el ácido elaídico, el isómero *trans* del ácido oleico (**figura 21-6**). Casi todos los dobles enlaces en ácidos grasos de cadena larga insaturados presentes de manera natural están en la configuración *cis*; las moléculas están "dobladas" 120 grados en el doble enlace. De este modo, el ácido oleico tiene una forma de L, mientras que el ácido elaídico permanece "recto". El incremento del número de dobles enlaces *cis* en un ácido graso da pie a diversas posibles configuraciones espaciales de la molécula; p. ej., el ácido araquidónico, con cuatro dobles enlaces *cis,* está doblado en forma de U (**figura 21-7**). Esto tiene profunda importancia para el empaque molecular en membranas celulares (capítulo 40) y sobre las posiciones ocupadas por ácidos grasos en moléculas más complejas, como los fosfolípidos. Los dobles enlaces *trans* alteran estas relaciones espaciales. Los **ácidos grasos *trans*** están presentes en ciertos alimentos, y surgen como un subproducto de la saturación de ácidos grasos durante hidrogenación, o "endurecimiento" de aceites naturales en la manufactura de margarina. Una pequeña contribución adicional proviene de la ingestión de grasa de rumiante que contiene ácidos grasos *trans,* que surgen a partir de la acción de microorganismos en el rumen. Ahora se sabe que el consumo de ácidos grasos *trans* es nocivo para la salud, y se relaciona con aumento del riesgo de enfermedades, entre ellas enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus. Esto ha llevado a desarrollar tecnología mejorada para producir margarina blanda con contenido bajo o nulo de ácidos grasos *trans*.

Las propiedades físicas y fisiológicas de ácidos grasos reflejan la longitud de la cadena y el grado de insaturación

Los puntos de fusión de ácidos grasos de carbono con un número par se incrementan con la longitud de la cadena y disminuyen

CUADRO 21-2 Ácidos grasos insaturados de importancia fisiológica y nutricional

Número de átomos de C y número y posición de dobles enlaces comunes	Familia	Nombre común	Nombre sistemático	Aparición
Ácidos monoenoicos (un doble enlace)				
16:1;9	ω7	Palmitoleico	*cis*-9-Hexadecenoico	En casi todas las grasas.
18:1;9	ω9	Oleico	*cis*-9-Octadecenoico	Posiblemente el ácido graso más común en grasas naturales; particularmente alto en el aceite de oliva.
18:1;9	ω9	Elaídico	*trans*-9-Octadecenoico	Grasas hidrogenadas y de rumiantes.
Ácidos dienoicos (dos dobles enlaces)				
18:2;9,12	ω6	Linoleico	holo-*cis*-9,12-Octadecadienoico	Maíz, cacahuate o maní, semillas de algodón, frijol de soja y muchos aceites vegetales.
Ácidos trienoicos (tres dobles enlaces)				
18:3;6,9,12	ω6	γ-Linolénico	holo-*cis*-6,9,12-Octadecatrienoico	Algunos vegetales, p. ej., aceite de onagra, aceite de borraja; ácido graso menor en animales.
18:3;9,12,15	ω3	α-Linolénico	holo-*cis*-9,12,15-Octadecatrienoico	Suele encontrarse con ácido linoleico, pero se halla particularmente en el aceite de linaza.
Ácidos tetraenoicos (cuatro dobles enlaces)				
20:4;5,8,11,14	ω6	Araquidónico	holo-*cis*-5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Se encuentra en grasas de animales; es un componente importante de fosfolípidos en animales.
Ácidos pentaenoicos (cinco dobles enlaces)				
20:5;5,8,11,14,17	ω3	Timnodónico	holo-*cis*-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico	Componente importante de aceites de pescado, p. ej., aceites de hígado de bacalao, caballa, sábalo atlántico y salmón.
Ácidos hexaenoicos (seis dobles enlaces)				
22:6;4,7,10,13,16,19	ω3	Cervónico	holo-*cis*-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico	Aceites de pescado, fosfolípidos en el cerebro.

de acuerdo con la insaturación. Un triacilglicerol que contiene tres ácidos grasos saturados de 12 carbonos o más es sólido a la temperatura corporal, mientras que si los residuos ácido graso son poliinsaturados, es líquido hasta por debajo de 0 °C. En la práctica, los acilgliceroles naturales contienen una mezcla de ácidos grasos adaptados para que satisfagan sus papeles funcionales. Por ejemplo, los lípidos de membrana, que deben ser líquidos a todas las temperaturas ambientales, están más insaturados que los lípidos de almacenamiento. Los lípidos en los tejidos que están sujetos a enfriamiento, por ejemplo, en hibernadores o en las extremidades de animales, están más insaturados.

Los ácidos grasos ω3 son antiinflamatorios y generan beneficios para la salud

Los ácidos grasos ω3 de cadena larga, como el **α-linolénico (ALA)** (que se encuentra en aceites de plantas), **eicosapentaenoico (EPA)** (que se encuentra en el aceite de pescado) y el docosahexaenoico (DHA) (que se encuentra en aceites de pescado y de algas) (cuadro 21-2) tienen efectos antiinflamatorios, quizá debido a sus efectos en la promoción de la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos menos inflamatorios en comparación con los ácidos grasos ω6 (figura 23-12). En vista de esto, se está

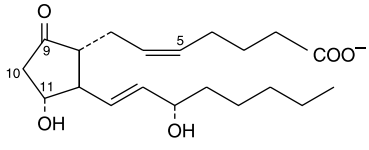


FIGURA 21-3 Prostaglandina E_2 (PGE_2).

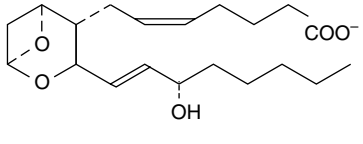


FIGURA 21-4 Tromboxano A_2 (TXA_2).

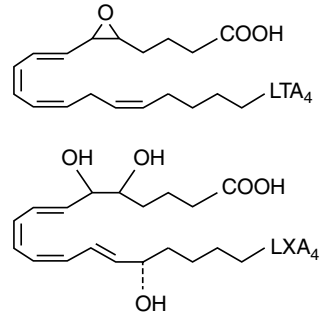


FIGURA 21-5 Estructura del leucotrieno y de la lipoxina. Los ejemplos que se muestran son el leucotrieno A_4 (LTA_4) y la lipoxina A4 (LXA_4).

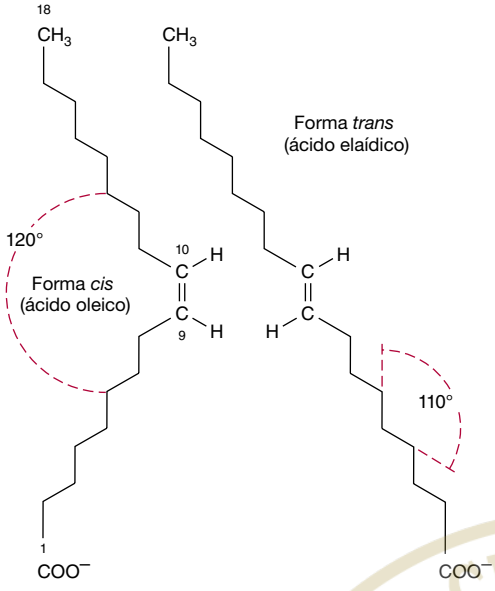


FIGURA 21-6 Isomerismo geométrico de ácidos grasos Δ^9, 18:1 (ácidos oleico y elaídico). No hay rotación alrededor de dobles enlaces de carbono-carbono. En la configuración *cis*, las cadenas acilo se encuentran en el mismo lado del enlace, mientras que en la forma *trans* están en lados opuestos.

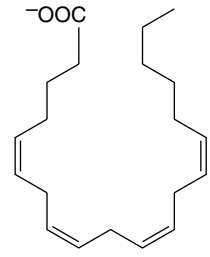


FIGURA 21-7 Ácido araquidónico. Cuatro dobles enlaces en la configuración *cis* hacen que la molécula adopte una forma de U.

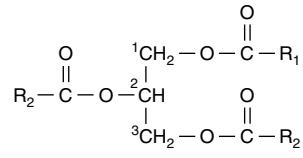


FIGURA 21-8 Triacilglicerol.

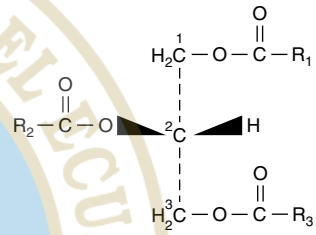


FIGURA 21-9 Fórmula proyectiva que muestra el triacil-*sn*-glicerol.

investigando de manera intensiva su uso potencial como una terapia de enfermedad crónica grave en la cual la inflamación es una causa contribuidora. La evidencia actual sugiere que las dietas ricas en ácidos grasos ω3 son beneficiosas, en particular para la **enfermedad cardiovascular**, pero también para otras enfermedades crónico-degenerativas, como el **cáncer**, la **artritis reumatoide** y la **enfermedad de Alzheimer**.

LOS TRIACILGLICEROLES (TRIGLICÉRIDOS)* SON LAS PRINCIPALES FORMAS DE ALMACENAMIENTO DE ÁCIDOS GRASOS

Los triacilgliceroles (**figura 21-8**) son ésteres del alcohol trihídrico glicerol y ácidos grasos. Los monoacilgliceroles y los diacilgliceroles, en los cuales uno o dos ácidos grasos están esterificados con glicerol, también se encuentran en los tejidos. Estos últimos tienen particular importancia en la síntesis e hidrólisis de triacilgliceroles (capítulos 24 y 25).

Los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos

A fin de numerar los átomos de carbono del glicerol de manera no ambigua, se usa el sistema *-sn* (numeración estereoquímica). Es importante percatarse de que los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos cuando se observan en tres dimensiones (que se muestran como una fórmula de proyección en la **figura 21-9**). Las enzimas distinguen con facilidad entre ellos, y casi siempre son específicas para un carbono o para el otro; por ejemplo, el glicerol siempre es fosforilado en *sn*-3 por la glicerol cinasa para dar glicerol 3-fosfato y no glicerol 1-fosfato (figura 24-2).

LOS FOSFOLÍPIDOS SON LOS PRINCIPALES CONSTITUYENTES LÍPIDOS DE LAS MEMBRANAS

Muchos fosfolípidos son derivados del **ácido fosfatídico** (figura 21-10), en el cual el fosfato está esterificado con un grupo OH de glicerol, y los otros dos grupos OH están esterificados a dos ácidos grasos de cadena larga (glicerofosfolípidos). El ácido fosfatídico es importante como un intermediario en la síntesis de triacilgliceroles, así como de fosfogliceroles (figura 24-2), pero no se encuentra en gran cantidad en los tejidos. Los esfingolípidos, como la **esfingomielina**, en la cual el fosfato es esterificado a **esfingosina**, un alcohol amino complejo (**figura 21-11**), también son componentes importantes de la membrana. Tanto los glicerofosfolípidos como los esfingolípidos tienen dos colas de hidrocarburo de cadena larga que son importantes para su función en la formación de la bicapa lipídica en membranas celulares (capítulo 40), pero en los primeros ambas son cadenas de ácidos grasos, mientras que en los segundos una es un ácido graso y la segunda es parte de la molécula de esfingosina (**figura 21-12**).

* De acuerdo con la terminología estandarizada de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) y la International Union of Biochemistry (IUB), los monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos deben designarse monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles, respectivamente. Sin embargo, la terminología más antigua aún recibe una amplia difusión, sobre todo en medicina clínica.

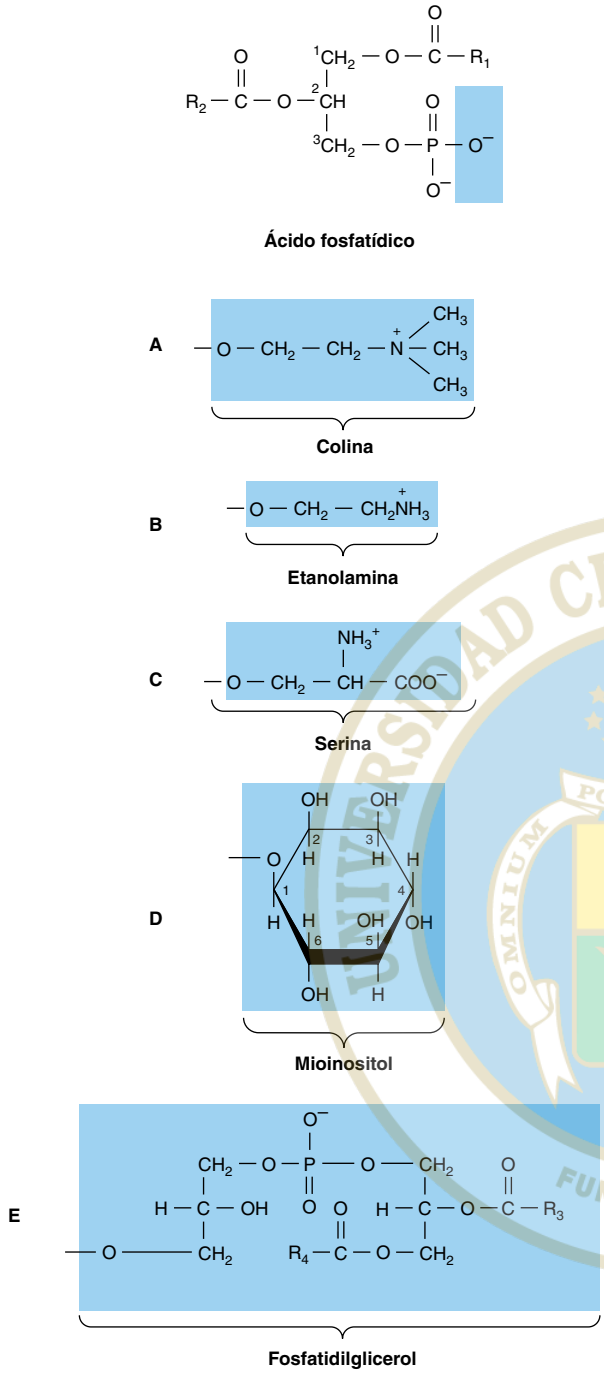


FIGURA 21-10 **Fosfolípidos.** El O– que se muestra sombreado en el ácido fosfatídico es sustituido por los sustituyentes que, según se muestra, forman en fosfolípidos: (**A**) 3-fosfatidilcolina, (**B**) 3-fosfatidiletanolamina, (**C**) 3-fosfatidilserina, (**D**) 3-fosfatidilinositol y (**E**) cardiolipina (difosfatidilglicerol).

Las fosfatidilcolinas (lecitinas) y las esfingomielinas son abundantes en las membranas celulares

Los glicerofosfolípidos que contienen **colina** (figura 21-10) (fosfatidilcolinas, comúnmente llamadas **lecitinas**) son los fosfolípidos más abundantes de la membrana celular, y representan una proporción grande de la reserva de colina del organismo. La

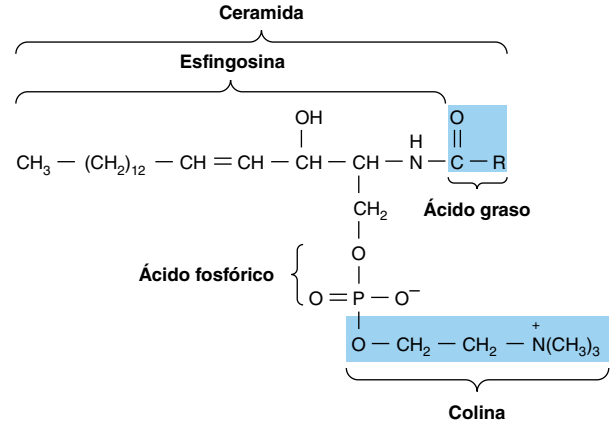


FIGURA 21-11 **Una esfingomielina.**

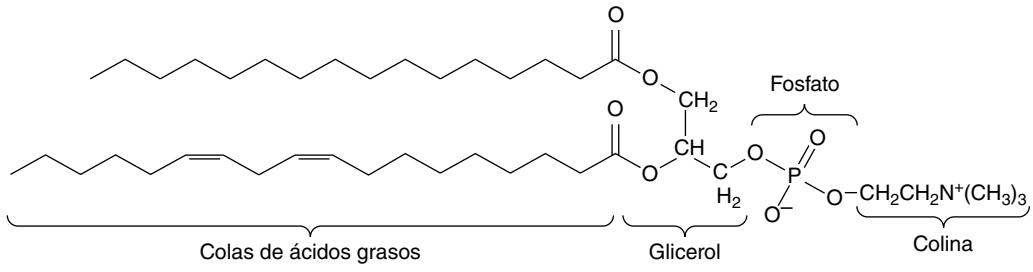
colina es importante en la transmisión nerviosa, como acetilcolina, y como una reserva de grupos metilo lábiles. La **dipalmitoil lecitina** es un agente de superficie (tensoactivo) muy eficaz y un constituyente fundamental del **surfactante** que evita la adherencia, debido a tensión de superficie, de las superficies internas de los pulmones. Su ausencia en los pulmones de prematuros causa **síndrome de dificultad respiratoria**. Casi todos los fosfolípidos tienen un radical acilo saturado en la posición *sn*-1, pero un radical insaturado en la posición *sn*-2 del glicerol.

La **fosfatidiletanolamina (cefalina)** y la **fosfatidilserina** (que se encuentra en casi todos los tejidos) también se hallan en las membranas celulares, y sólo difieren de la fosfatidilcolina en que la etanolamina o serina, respectivamente, reemplaza a la colina (figura 21-10). La fosfatidilserina también participa en la **apoptosis** (muerte celular programada).

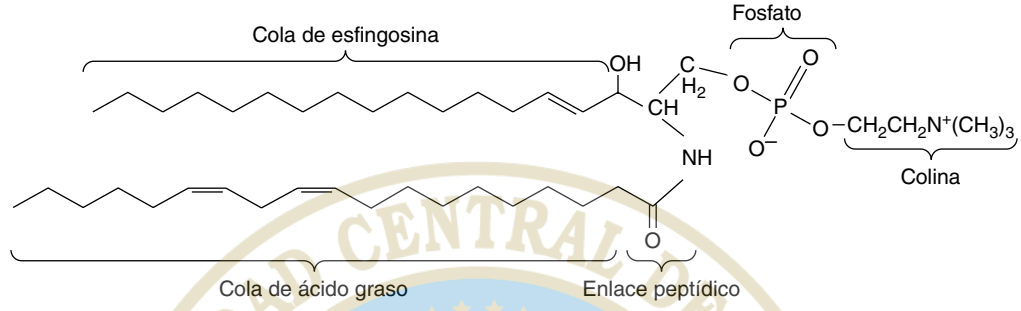
Las esfingomielinas se encuentran en la hojuela externa de la bicapa lipídica de la membrana celular, y son particularmente abundantes en áreas especializadas de la membrana plasmática conocidas como **balsas lipídicas** (capítulo 40). También se encuentran en grandes cantidades en la **vaina de mielina** que rodea a las fibras nerviosas. Se cree que están implicadas en la **señalización celular** y en la **apoptosis.** Las esfingomielinas no contienen glicerol y en el momento de la hidrólisis dan un ácido graso, ácido fosfórico, colina y esfingosina (figura 21-11). La combinación de esfingosina más ácido graso se conoce como **ceramida**, una estructura que también se encuentra en los glicoesfingolípidos (véase la sección siguiente).

El fosfatidilinositol es un precursor de segundos mensajeros

El inositol está presente en el **fosfatidilinositol** como el estereoisómero, mioinositol (figura 21-10). Los fosfatidilinositoles fosforilados **(fosfoinositidas)** son componentes menores de las membranas celulares, pero desempeñan una parte importante en la **señalización celular** y el **tráfico de membrana**. Las fosfoinositidas pueden tener 1, 2 o 3 grupos fosfato fijos al anillo de inositol. Por ejemplo, el fosfatidilinositol 4,5-difosfato (PiP_2), es dividido hacia **diacilglicerol** e **inositol trifosfato** en el momento de la estimulación por un agonista hormonal idóneo, y ambos actúan como señales internas o segundos mensajeros.



Fosfatidilcolina



Una esfingomielina

FIGURA 21-12 Comparación de las estructuras de glicerofosfolípido y esfingolípido. Ambos tipos de fosfolípido tienen dos colas de hidrocarburo, en los glicerofosfolípidos ambas son cadenas de ácido graso (se muestra una fosfatidilcolina con un ácido graso saturado y un insaturado), y en los esfingolípidos una es una cadena de ácido graso, y la otra forma parte de la porción esfingosina (se muestra una esfingomielina). Las dos colas hidrofóbicas y el grupo de cabeza polar son importantes para la función de estos fosfolípidos en la bicapa lipídica en las membranas celulares (capítulo 40).

La cardiolipina es un importante lípido de las membranas mitocondriales

El ácido fosfatídico es un precursor del **fosfatidilglicerol** que, a su vez, da lugar a la **cardiolipina** (figura 21-10). Este fosfolípido sólo se encuentra en las mitocondrias y es esencial para la función de las mismas. El decremento de las concentraciones de cardiolipina o las alteraciones de su estructura o metabolismo causan disfunción mitocondrial en el envejecimiento y en estados patológicos, entre ellos insuficiencia cardíaca, hipotiroidismo y síndrome de Barth (miopatía cardioesquelética).

Los lisofosfolípidos son intermediarios en el metabolismo de fosfogliceroles

Son fosfoacilgliceroles que contienen sólo un radical acilo, por ejemplo, la **lisofosfatidilcolina (lisolecitina)** (**figura 21-13**), importante en el metabolismo y la interconversión de fosfolípidos. También se encuentra en lipoproteínas oxidadas y ha sido implicada en algunos de sus efectos en la promoción de **aterosclerosis**.

Los plasmalógenos se encuentran en el cerebro y el músculo

Estos compuestos constituyen hasta 10 a 30% de los fosfolípidos del cerebro y el corazón. Desde el punto de vista estructural, los plasmalógenos semejan fosfatidiletanolamina, pero poseen un enlace éter en el carbono *sn*-1 en lugar del enlace éster que se encuentra en los acilgliceroles. Típicamente, el radical alquilo es un alcohol insaturado (figura 21-14). En algunas circunstancias, la etanolamina puede estar sustituida por colina, serina o inositol. La función de los plasmalógenos aún se entiende poco, pero se ha sugerido que pueden tener un efecto protector contra especies reactivas de oxígeno.

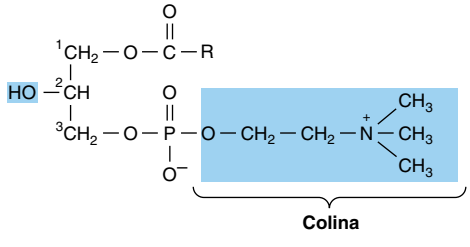


FIGURA 21-13 Lisofosfatidilcolina (lisolecitina).

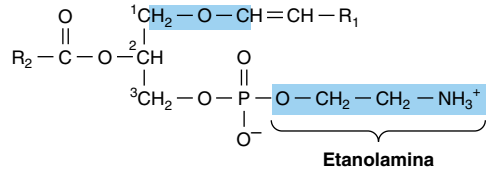


FIGURA 21-14 Plasmalogeno.

LOS GLUCOLÍPIDOS (GLICOESFINGOLÍPIDOS) SON IMPORTANTES EN LOS TEJIDOS NERVIOSOS Y EN LA MEMBRANA CELULAR

Los glucolípidos son lípidos con un carbohidrato o cadena de carbohidrato fijo. Los glucolípidos están ampliamente distribuidos en todos los tejidos del cuerpo, en particular en el tejido nervioso, como el cerebro. Se encuentran sobre todo en la hojuela externa de la membrana plasmática, donde contribuyen a **carbohidratos de superficie celular** con forma de **glucocálix** (capítulo 15).

Los principales glucolípidos que se encuentran en tejidos de animales son glucoesfingolípidos. Contienen ceramida y uno o más azúcares. La **galactosilceramida** (**figura 21-15**) es un importante glucoesfingolípido del cerebro y otros tejidos nerviosos, y se encuentra en cantidades relativamente bajas en otros sitios. Contiene varios ácidos grasos C24 característicos, por ejemplo, ácido cerebrónico.

La galactosilceramida puede ser convertida en sulfogalactosilceramida **(sulfatida)** que tiene un grupo sulfo fijo en el O en la posición 3 de la galactosa, y está presente en cantidades altas en la **mielina**. La **glucosilceramida** se parece a la galactosilceramida, pero el grupo cabeza es glucosa en lugar de galactosa. La glucosilceramida es el glucoesfingolípido simple predominante de tejidos extraneurales; también se encuentra en el cerebro en pequeñas cantidades. Los **gangliósidos** son glucoesfingolípidos complejos derivados de la glucosilceramida, que además contienen una o más moléculas de un **ácido siálico**. El ácido acetilneuramínico (NeuAc; capítulo 15) es el principal ácido siálico que se encuentra en los tejidos de ser humano. Los gangliósidos también están presentes en cifras altas en tejidos nerviosos; parecen tener funciones de receptor y otras. Funcionan en el reconocimiento, y en la comunicación, de célula-célula, y como receptores para hormonas y toxinas bacterianas, como la toxina del cólera. El ganglósido más simple que se encuentra en los tejidos es GM_3, que contiene ceramida, una molécula de glucosa, una molécula de galactosa y una molécula de NeuAc. En la nomenclatura taquigráfica usada, G representa ganglósido; M es una especie que contiene monosialo y el número en subíndice 3 es asignado con base en la migración cromatográfica. **GM1** (**figura 21-16**), un ganglósido más complejo derivado de GM_3, es de considerable interés biológico, puesto que se sabe que en el intestino del ser humano es el receptor para la **toxina del cólera**. Otros gangliósidos pueden contener 1 a 5 moléculas de ácido siálico, lo que da lugar a disialogangliósidos, trisialogangliósidos, etcétera.

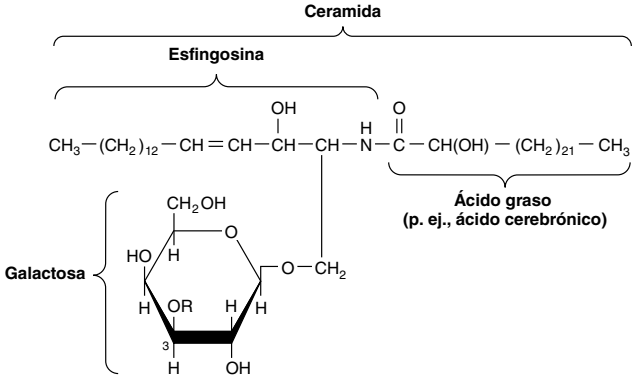


FIGURA 21-15 **Estructura de la galactosilceramida.**

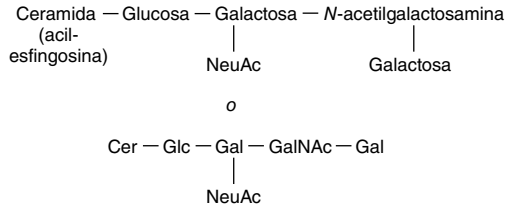


FIGURA 21-16 **Ganglósido GM1, un monosialoganglósido, el receptor para la toxina del cólera en el intestino del ser humano.**

LOS ESTEROIDES DESEMPEÑAN MUCHAS FUNCIONES IMPORTANTES DESDE EL PUNTO DE VISTA FISIOLÓGICO

Si bien el **colesterol** probablemente se conoce mejor por su asociación con la **aterosclerosis** y la enfermedad cardíaca, desempeña diversas funciones esenciales en el organismo. Es el precursor de un gran número de **esteroides** igual de importantes que incluyen los **ácidos biliares**, las **hormonas adrenocorticales**, las **hormonas sexuales**, **vitamina D** y **glucósidos cardíacos**.

Todos los esteroides tienen núcleo cíclico similar que semeja fenantreno (anillos A, B y C) al cual está fijo un anillo ciclopentano (D). Las posiciones de carbono en el núcleo esteroide se numeran como se muestra en la **figura 21-17**. Es importante percatarse de que en fórmulas estructurales de esteroides, un anillo hexagonal simple denota un anillo de seis carbonos por completo saturado, con todas las valencias satisfechas por enlaces hidrógeno, a menos que se muestre lo contrario; es decir, no es un anillo benceno. Todos los dobles enlaces se muestran como tales. Las cadenas laterales metilo se muestran como enlaces únicos sueltos en el extremo más lejano (metilo), mismas que existen típicamente en las posiciones 10 y 13 (que constituyen los átomos C 19 y 18). Una cadena lateral en la posición 17 es habitual (como en el colesterol). Si el compuesto tiene uno o más grupos hidroxilo y ningún grupo carbonilo o carboxilo, es un esterol, y el nombre termina en *-ol*.

Debido a asimetría en la molécula de esteroide, muchos estereoisómeros son posibles

Cada uno de los anillos de seis carbonos del núcleo esteroide tiene la capacidad de existir en la conformación tridimensional de "silla" o de "bote" (**figura 21-18**). En los esteroides que existen

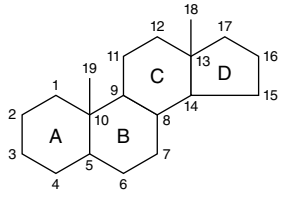


FIGURA 21-17 **El núcleo esteroide.**

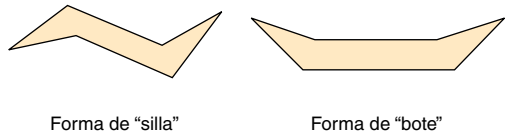


FIGURA 21-18 **Conformaciones de estereoisómeros del núcleo esteroide.**

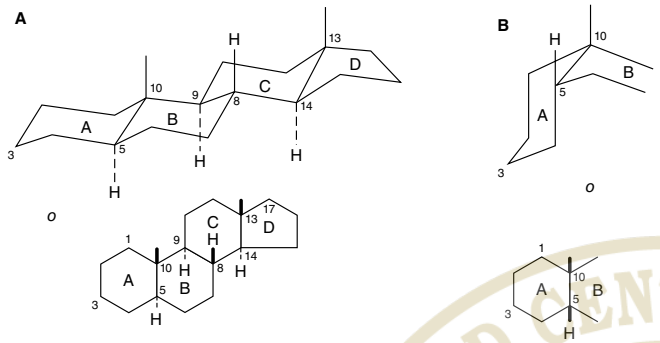


FIGURA 21-19 **Núcleo esteroide generalizado, que muestra (A) una configuración holo-*trans* entre anillos adyacentes y (B) una configuración *cis* entre anillos A y B.**

de modo natural, casi todos los anillos están en la forma de "silla", que es la conformación más estable. Los anillos pueden ser *cis* o *trans*, en función uno del otro (**figura 21-19**). La unión entre los anillos A y B puede ser *cis* o *trans* en esteroides presentes de manera natural. La que hay entre B y C es *trans,* como por lo regular lo es la unión C/D. Los enlaces que fijan grupos sustituyentes por arriba del plano de los anillos (enlaces β) se muestran con líneas continuas y marcadas, mientras que los enlaces que fijan grupos por debajo (enlaces α) se indican con líneas discontinuas. El anillo A de un esteroide 5α siempre es *trans* respecto al anillo B, mientras que es *cis* en un esteroide 5β. Los grupos metilo fijos a C10 y C13 siempre están en la configuración β.

El colesterol es un constituyente importante de muchos tejidos

El colesterol (**figura 21-20**) está ampliamente distribuido en todas las células del cuerpo, pero en particular en el tejido nervioso. Es un constituyente de importancia de la membrana plasmática y de las lipoproteínas plasmáticas (capítulo 26). A menudo se encuentra como **éster de colesterol**, donde el grupo hidroxilo en la posición 3 está esterificado con un ácido graso de cadena larga. Se encuentra en animales, no así en vegetales ni en bacterias.

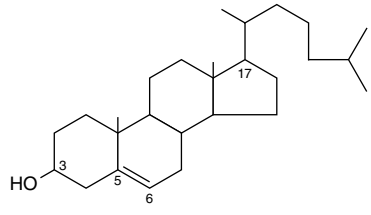


FIGURA 21-20 **Colesterol.**

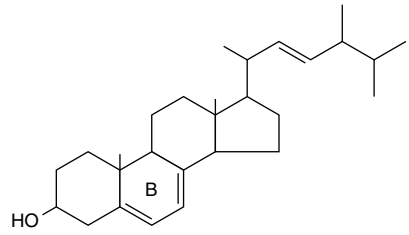


FIGURA 21-21 **Ergosterol.**

El ergosterol es un precursor de la vitamina D

El ergosterol se encuentra en plantas y levadura, y es importante como un precursor de la vitamina D (**figura 21-21**). Cuando se irradia con luz ultravioleta, el anillo B se abre para formar vitamina D_2 en un proceso similar al que forma vitamina D_3 a partir del 7-deshidrocolesterol en la piel (figura 44-3).

Los poliprenoides comparten el mismo compuesto original que el colesterol

Aun cuando no son esteroides, los poliprenoides están relacionados porque se sintetizan, al igual que el colesterol (figura 26-2), a partir de unidades de isopreno de cinco carbonos (**figura 21-22**). Incluyen la **ubiquinona** (capítulo 13), que participa en la cadena respiratoria en las mitocondrias, y el alcohol de cadena larga **dolicol** (**figura 21-23**), que participa en la síntesis de glucoproteína al transferir residuos carbohidrato hacia residuos asparagina del polipéptido (capítulo 46). Los compuestos isoprenoide derivados de vegetales comprenden caucho, alcanfor, las vitaminas liposolubles A, D, E y K, y β-caroteno (provitamina A).

LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA ES UNA FUENTE DE RADICALES LIBRES

La peroxidación (**autooxidación**) de lípidos expuestos a oxígeno no sólo causa deterioro de alimentos **(rancidez)** sino que también daña tejidos *in vivo,* donde puede ser una causa de cáncer, enfermedades inflamatorias, aterosclerosis y envejecimiento. Se considera que los efectos perjudiciales son causados por **radicales libres,** moléculas que tienen electrones de valencia no apareados, lo que hace que sean altamente reactivos. Los radicales libres que contienen oxígeno (p. ej., $ROO^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$) se denominan **especies reactivas de oxígeno (ROS)**. Éstos son producidos durante el transcurso de la formación de peróxido a partir de ácidos grasos que contienen dobles enlaces interrumpidos por

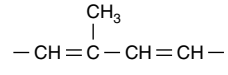


FIGURA 21-22 **Unidad de isopreno.**

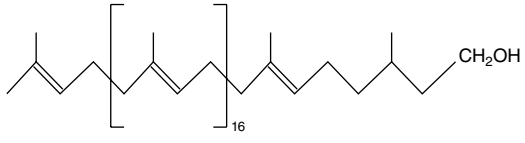


FIGURA 21-23 **Dolicol (un alcohol C95).**

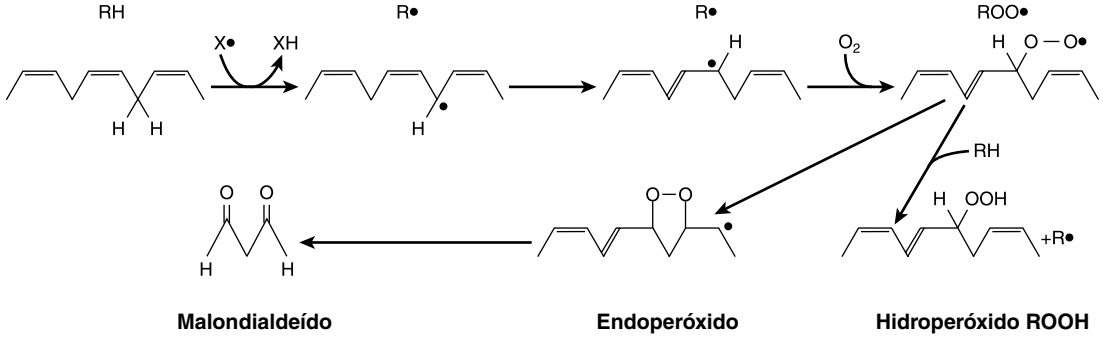


FIGURA 21-24 Peroxidación lipídica. La reacción es iniciada por un radical libre existente (X•), por la luz o por iones metálicos. El malondialdehído sólo es formado por ácidos grasos con tres o más dobles enlaces, y se usa como una medida de la peroxidación lipídica junto con el etano de los dos carbonos terminales de ácidos grasos ω3, y pentano de los cinco carbonos terminales de ácidos grasos ω6.

metileno, esto es, los que se encuentran en los ácidos grasos poliinsaturados que existen de modo natural (**figura 21-24**). La **peroxidación lipídica** es una reacción en cadena que proporciona un aporte continuo de ROS que inician peroxidación adicional y, así, tienen efectos en potencia devastadores. El proceso entero puede describirse como sigue:

1. Iniciación:

$$ROOH + Metal^{(n)+} \rightarrow ROO^{\bullet} + Metal^{(n-1)+} + H^{+}$$
$$X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$$

2. Propagación:

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$$
$$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}, \text{ etcétera}$$

3. Terminación:

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$$
$$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$$
$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$$

A fin de controlar la peroxidación lipídica y reducirla, tanto los humanos en sus actividades, como la Naturaleza, recurren al uso de **antioxidantes**. El propil galato, el hidroxianisol butilado (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT) son antioxidantes que se usan como aditivos de alimentos. Los antioxidantes naturales incluyen vitamina E (tocoferol), que es liposoluble, y urato y vitamina C, que son hidrosolubles. El β-caroteno es un antioxidante a PO_2 baja. Los antioxidantes caen dentro de dos clases: 1) antioxidantes preventivos, que reducen el índice de iniciación de cadena oxidativa, y 2) antioxidantes que rompen la cadena oxidativa, que interfieren con la propagación de dicha cadena. Los antioxidantes preventivos comprenden la catalasa y otras peroxidasas, como la glutatión peroxidasa (figura 20-3), que reaccionan con ROOH; selenio, un componente esencial de la glutatión peroxidasa y que regula su actividad, y quelantes de iones metálicos, como EDTA (etilendiaminotetraacetato) y DTPA (dietilentriaminopentaacetato). *In vivo,* los principales antioxidantes que rompen la cadena oxidativa son la superóxido dismutasa, que actúa en la fase acuosa para atrapar radicales libres superóxido ($O_2^{\bullet -}$) urato y vitamina E, que actúan en la fase lipídica para atrapar radicales ROO• (figura 44-6).

La peroxidación también es catalizada *in vivo* por compuestos hem (hemo) y por **lipooxigenasas** (figura 23-14) que se encuentran en plaquetas y leucocitos. Otros productos de autooxidación u oxidación enzimática de importancia fisiológica incluyen **oxiesteroles** (formados a partir del colesterol) e **isoprostanos** (formados a partir de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados, como ácido araquidónico).

LOS LÍPIDOS ANFIPÁTICOS SE ORIENTAN POR SÍ MISMOS EN INTERFASES DE ACEITE-AGUA

Forman membranas, micelas, liposomas y emulsiones

En general, los lípidos son insolubles en agua porque contienen un predominio de grupos no polares (hidrocarburo). Sin embargo, los ácidos grasos, los fosfolípidos, los esfingolípidos, las sales biliares y, en menor grado, el colesterol, contienen grupos polares. En consecuencia, parte de la molécula es **hidrofóbica**, o insoluble en agua, y parte **hidrofílica**, o soluble en agua. Tales moléculas se describen como **anfipáticas** (**figura 21-25**); y se orientan en interfases de aceite-agua con el grupo polar en la fase acuosa y el grupo no polar en la fase oleosa. Una bicapa de ese tipo de lípidos anfipáticos es la estructura básica en **membranas** biológicas (capítulo 40). Cuando hay una concentración crítica de estos lípidos en un medio acuoso, forman **micelas**. Los **liposomas** pueden formarse sometiendo a ultrasonido un lípido anfipático en un medio acuoso. Constan de esferas de bicapas lipídicas que encierran parte del medio acuoso. Las agregaciones de sales biliares hacia micelas y liposomas, y la formación de micelas mixtas con los productos de la digestión de grasas tienen importancia en facilitar la absorción de lípidos en el intestino. Los liposomas tienen uso clínico potencial —en particular cuando se combinan con anticuerpos específicos para tejido— como acarreadores de fármacos en la circulación, y dirigidos hacia órganos específicos, por ejemplo, en la terapia para el cáncer. Además, se usan para transferencia de genes hacia células

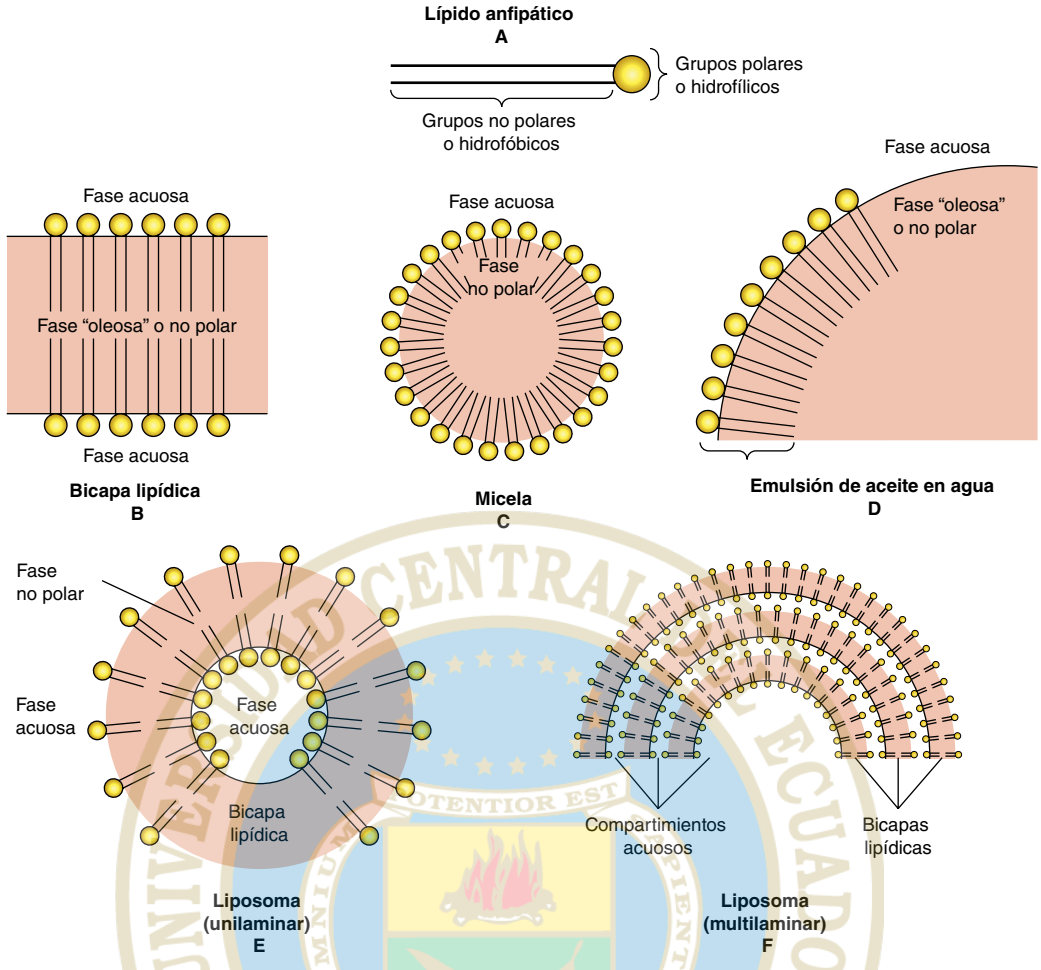


FIGURA 21-25 **Formación de membranas lipídicas, micelas, emulsiones y liposomas a partir de lípidos anfipáticos, por ejemplo, fosfolípidos.**

vasculares, y como acarreadores para el aporte tópico y transdérmico de medicamentos y cosméticos. Las **emulsiones** son partículas de tamaño mucho mayor —por lo general formadas por lípidos no polares en un medio acuoso— y se estabilizan por medio de agentes emulsificantes, como lípidos anfipáticos (p. ej., lecitina), que forman una capa de superficie que separa la masa principal del material no polar de la fase acuosa (figura 21-25).

RESUMEN

- Los lípidos tienen la propiedad común de ser relativamente insolubles en agua (hidrofóbicos) pero solubles en solventes no polares. Los lípidos anfipáticos también contienen uno o más grupos polares, lo que hace que sean idóneos como constituyentes de membranas en interfases lípido-agua.
- Los lípidos de gran importancia fisiológica son los ácidos grasos y sus ésteres, junto con el colesterol y otros esteroides.
- Los ácidos grasos de cadena larga pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados, de acuerdo con el número de dobles enlaces presentes. Su fluidez se aminora con la longitud de la cadena, y aumenta de acuerdo con el grado de insaturación.
- Los eicosanoides se forman a partir de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos, y constituyen un importante grupo de compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica, conocidos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas.
- Los ésteres de glicerol son los lípidos de mayor importancia en el aspecto cuantitativo, representados por el triacilglicerol ("grasa"), un constituyente importante de algunas clases de lipoproteínas, y la forma de almacenamiento de lípido en el tejido adiposo. Los glicerofosfolípidos y esfingolípidos son lípidos anfipáticos, y tienen funciones importantes: como constituyentes principales de membranas y la capa externa de lipoproteínas, como surfactantes en los pulmones, como precursores de segundos mensajeros, y como constituyentes del tejido nervioso.
- Los glucolípidos también son constituyentes importantes del tejido nervioso, como el cerebro y la hojuela externa de la membrana celular, donde contribuyen a los carbohidratos en la superficie de la célula.
- El colesterol, un lípido anfipático, es un componente de importancia de las membranas. Es la molécula original a partir de la cual se sintetizan todos los otros esteroides en el cuerpo, incluso hormonas importantes como las hormonas adrenocorticales y sexuales, vitaminas D y ácidos biliares.
- La peroxidación de lípidos que contienen ácidos grasos poliinsaturados lleva a la generación de radicales libres que dañan tejidos y causan enfermedad.

REFERENCIAS

Christie WW: *Lipid Analysis*, 3rd ed. The Oily Press, 2003.

Dessi M, Noce A, Bertucci P, *et al*: Atherosclerosis, dyslipidemia and inflammation: the significant role of polyunsaturated fatty acids. ISRN Inflamm, 2013;191:823.

Dowhan W, Bodanov H, Mileykovskaya E: Functional roles of lipids in membranes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008:1–37.

Gunstone FD, Harwood JL, Dijkstra AJ: *The Lipid Handbook with CD-Rom*. CRC Press, 2007.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn K: *Lipid Biochemistry*. Blackwell Publishing, 2002.

Niki E, Yoshida Y, Saito Y, *et al*: Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition and biological effects. Biochem Biophys Res Commun, 2005;338:668.

Tur JA, Bibiloni MM, Sureda A, *et al*: Dietary sources of omega 3 fatty acids: public heath risks and benefits. Brit J Nutr 2012;107(suppl 2):S23.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 22

Oxidación de ácidos grasos: cetogénesis

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir los procesos mediante los cuales los ácidos grasos son transportados en la sangre y activados y transportados hacia la matriz de las mitocondrias para desintegración para obtención de energía.
- Esbozar la vía de la β-oxidación mediante la cual los ácidos grasos son metabolizados hacia acetil-CoA, y explicar cómo esto lleva a la producción de grandes cantidades de ATP a partir de los equivalentes reductores producidos durante la β-oxidación y metabolismo adicional de la acetil-CoA por medio del ciclo del ácido cítrico.
- Identificar los tres compuestos denominados "cuerpos cetónicos", y describir las reacciones mediante las cuales se forman en las mitocondrias del hígado.
- Apreciar que los cuerpos cetónicos son combustibles importantes para tejidos extrahepáticos, e indicar las condiciones en las cuales se favorecen su síntesis y uso.
- Indicar las tres etapas en el metabolismo de los ácidos grasos en las cuales se regula la cetogénesis.
- Entender que la sobreproducción de cuerpos cetónicos lleva a cetosis y, si es prolongada, a cetoacidosis, e identificar estados patológicos en los que ocurre esto.
- Dar ejemplos de enfermedades asociadas con oxidación alterada de ácidos grasos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Aun cuando los ácidos grasos son degradados por oxidación hacia acetil-CoA y se sintetizan a partir de esta última, la oxidación de ácidos grasos no es la inversa simple de su biosíntesis, sino que es un proceso por completo diferente que tiene lugar en un compartimiento separado de la célula. La separación entre la oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias y la biosíntesis en el citosol permite que cada proceso se controle de modo individual y se integre con los requerimientos del tejido. Cada paso en la oxidación de ácidos grasos incluye derivados acil-CoA, y es catalizado por enzimas separadas, utiliza NAD^+ y FAD como coenzimas, y genera ATP. Es un proceso aerobio; requiere la presencia de oxígeno.

La oxidación aumentada de ácidos grasos es una característica de la inanición y de la diabetes mellitus, que conduce a la producción elevada de **cuerpos cetónicos** por el hígado **(cetosis)**. Los cuerpos cetónicos son ácidos, y cuando se producen en exceso durante periodos prolongados, como en la diabetes, dan por resultado **cetoacidosis**, que por último es mortal. Dado que la gluconeogénesis depende de la oxidación de ácidos grasos, cualquier deterioro de dicha oxidación da pie a **hipoglucemia**. Esto ocurre en diversos estados de **deficiencia de carnitina** o deficiencias de enzimas esenciales en la oxidación de ácidos grasos, por ejemplo, **carnitina palmitoiltransferasa**, o inhibición de la oxidación de ácidos grasos por venenos, por ejemplo, **hipoglicina**.

LA OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OCURRE EN LAS MITOCONDRIAS

Los ácidos grasos se transportan en la sangre como ácidos grasos libres (FFA)

Los FFA —también denominados ácidos grasos no esterificados (capítulo 21)— son ácidos grasos que se encuentran en el **estado no esterificado**. En el plasma, los FFA de cadena más larga se combinan con **albúmina**, y en la célula están fijos a una **proteína de unión a ácido graso** así que, de hecho, nunca son en realidad "libres". Los ácidos grasos de cadena más corta son más hidrosolubles y existen como el ácido no ionizado o como un anión ácido graso.

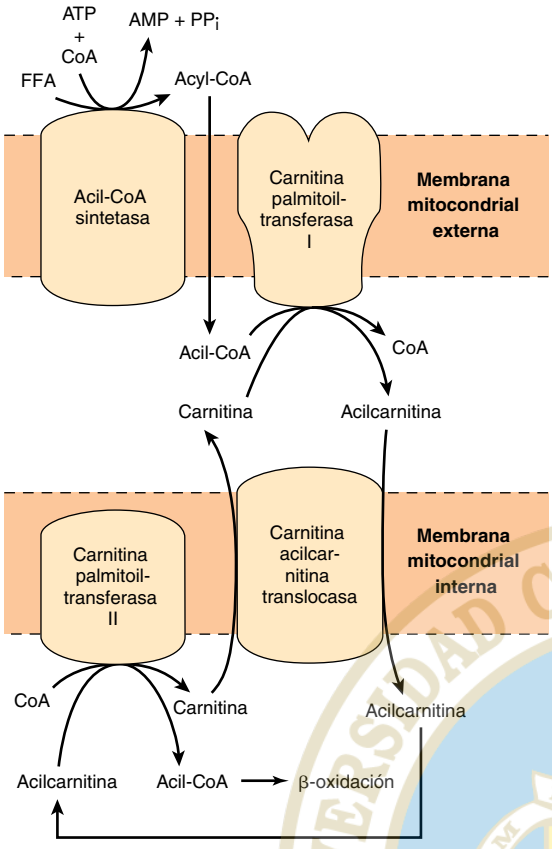


FIGURA 22-1 Papel de la carnitina en el transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial interna. La acil-CoA de cadena larga entra al espacio intermembrana después de su formación por la acil-CoA sintetasa, pero no puede pasar a través de la membrana mitocondrial interna. Por ende, para que haya transporte a través de la membrana los grupos acilo son transferidos de la CoA a la carnitina por la carnitina palmitoil transferasa I (embebida en la membrana mitocondrial externa). La acilcarnitina formada puede ser transportada entonces hacia la matriz mitocondrial por la carnitina acilcarnitina translocasa (embebida en la membrana mitocondrial interna) en intercambio por una carnitina libre. A continuación, el grupo acilo es transferido de regreso a la CoA por la carnitina palmitoil transferasa II, lo cual vuelve a formar acil-CoA, y la carnitina liberada es transportada de regreso hacia el espacio intermembrana mediante la enzima translocasa.

Los ácidos grasos se activan antes de ser catabolizados

Antes de que los ácidos grasos se puedan catabolizar deben convertirse en un intermediario activo; es el único paso en la degradación completa de un ácido graso que necesita energía proveniente del ATP. En presencia de ATP y coenzima A, la enzima **acil-CoA sintetasa (tiocinasa)** cataliza la conversión de un ácido graso (o FFA) en un "ácido graso activo" o **acil-CoA**, usando un fosfato de alta energía con la formación de AMP y PP_i (**figura 22-1**). La **pirofosfatasa inorgánica** hidroliza al PP_i, con pérdida de otro fosfato de alta energía, lo que asegura que la reacción general continúe hasta que se complete. Las acil-CoA sintetasas se encuentran en el retículo endoplásmico, los peroxisomas, y dentro y sobre la membrana externa de las mitocondrias.

Los ácidos grasos de cadena larga penetran en la membrana mitocondrial interna como derivados de la carnitina

La **carnitina** (β-hidroxi-γ-trimetilamonio butirato), $(CH_3)_3N^+—CH_2—CH(OH)—CH_2—COO^-$, se encuentra ampliamente distribuida, y es en particular abundante en el músculo. La acil-CoA de cadena larga (o FFA) no puede penetrar en la membrana interna de las mitocondrias. Sin embargo, en presencia de carnitina, la **carnitina palmitoiltransferasa-I**, situada en la membrana mitocondrial externa, transfiere grupo acilo de cadena larga de la CoA a la carnitina, lo que forma **acilcarnitina** y libera CoA. La acilcarnitina es capaz de penetrar en la membrana interna y tener acceso al sistema de enzimas de β-oxidación mediante el transportador por intercambio de la membrana interna **carnitina-acilcarnitina translocasa.** El transportador se une a la acilcarnitina y la transporta a través de la membrana en intercambio por carnitina. A continuación el grupo acilo es transferido a la CoA, de modo que se vuelve a formar acil-CoA, y se libera carnitina. Esta reacción es catalizada por la **carnitina palmitoiltransferasa-II**, que está situada en el interior de la membrana interna (figura 22-1).

LA β-OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS COMPRENDE DIVISIÓN SUCESIVA CON LIBERACIÓN DE ACETIL-COA

En la vía **β-oxidación (figura 22-2)**, dos carbonos a la vez se separan de moléculas de acil-CoA, empezando en el extremo carbonilo. La cadena se rompe entre los átomos de carbono α(2) y β(3) —de ahí el nombre β-oxidación—. Las unidades de dos carbonos que se forman son acetil-CoA; así, la palmitoil-CoA forma ocho moléculas de acetil-CoA.

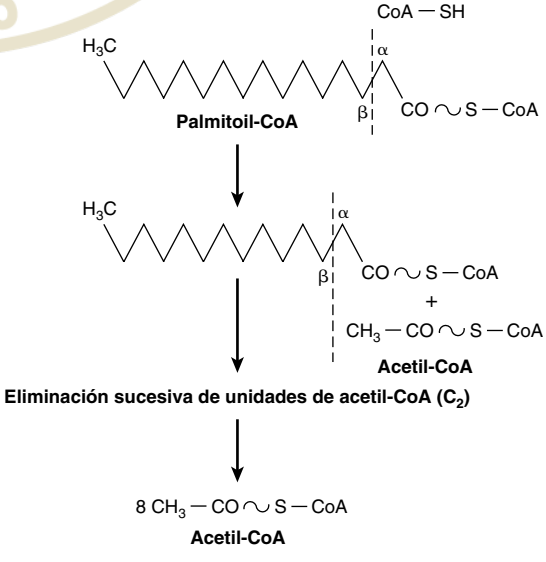


FIGURA 22-2 Perspectiva general de la β-oxidación de ácidos grasos.

El ciclo de la β-oxidación genera $FADH_2$ y NADH

Varias enzimas, conocidas en conjunto como "ácido graso oxidasa", se encuentran en la matriz mitocondrial o en la membrana interna adyacentes a la cadena respiratoria. Éstas catalizan la oxidación de acil-CoA a acetil-CoA por medio de la vía de la β-oxidación. El sistema procede de manera cíclica, lo que da por resultado la degradación de ácidos grasos largos a acetil CoA. En este proceso, se generan grandes cantidades de los equivalentes reductores $FADH_2$ y NADH, y se usan para formar ATP mediante fosforilación oxidativa (capítulo 13) (**figura 22-3**).

El primer paso es la eliminación de dos átomos de hidrógeno de los átomos de carbono 2(α) y 3(β), lo cual es catalizado por la **acil-CoA deshidrogenasa**, y requiere FAD. Esto origina la formación de Δ^2-*trans*-enoil-CoA y $FADH_2$. La reoxidación de $FADH_2$ por la cadena respiratoria necesita la mediación de otra flavoproteína, llamada flavoproteína transferidora de electrón (capítulo 12). Se añade agua para saturar el doble enlace y formar 3-hidroxiacil-CoA, lo cual es catalizado por la **Δ^2-enoil-CoA hidratasa**. El derivado 3-hidroxi pasa por más deshidrogenación en el carbono 3, catalizado por la **L(+)-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa** para formar el compuesto 3-cetoacil-CoA correspondiente. En este caso, el NAD^+ es la coenzima involucrada. Por último, la 3-cetoacil-CoA se divide en la posición 2,3 por medio de la **tiolasa** (3-cetoacil-CoA-tiolasa), lo que forma acetil-CoA y una nueva acil-CoA dos carbonos más corta que la molécula de acil-CoA original. La acil-CoA más corta que se forma en la reacción de división vuelve a entrar a la vía oxidativa en la reacción 2 (figura 22-3). De esta manera, un ácido graso de cadena larga con un número par de carbonos puede ser degradado por completo a acetil-CoA (unidades C_2). Por ejemplo, después de siete ciclos, el ácido graso C16, palmitato, sería convertido en ocho moléculas de acetil CoA. Puesto que la acetil-CoA se puede oxidar hacia CO_2 y agua mediante el ciclo del ácido cítrico (que también se encuentra dentro de las mitocondrias), se logra la oxidación completa de ácidos grasos.

La oxidación de un ácido graso con un número impar de átomos de carbono da acetil-CoA más una molécula de propionil-CoA

Los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono se oxidan por medio de la vía de la β-oxidación, lo que produce acetil-CoA, hasta que queda un residuo de tres carbonos (propionil-CoA). Este compuesto se convierte en succinil-CoA, un constituyente del ciclo del ácido cítrico (figura 16-2). En consecuencia, **el residuo propionilo de un ácido graso de cadena impar es la única parte de un ácido graso que es glucogénica**.

La oxidación de ácidos grasos produce una gran cantidad de ATP

El transporte en la cadena respiratoria de electrones desde $FADH_2$ y NADH lleva a la síntesis de cuatro fosfatos de alta energía (capítulo 13) para cada uno de los siete ciclos necesarios para la desintegración del ácido graso C16, palmitato, hacia acetil-CoA ($7 \times 4 = 28$). Se forma un total de 8 mol de acetil-CoA y cada uno da lugar a 10 mol de ATP en el momento de la oxidación en el ciclo del ácido cítrico, lo que hace $8 \times 10 = 80$ mol. Dos deben sustraerse para la activación inicial del ácido graso, lo que da una ganancia neta de 106 moles de ATP por cada mol de palmitato (cuadro 22-1), o $106 \times 30.5^* = 3\,233$ kJ; esto representa 33% de la energía libre de combustión del ácido palmítico.

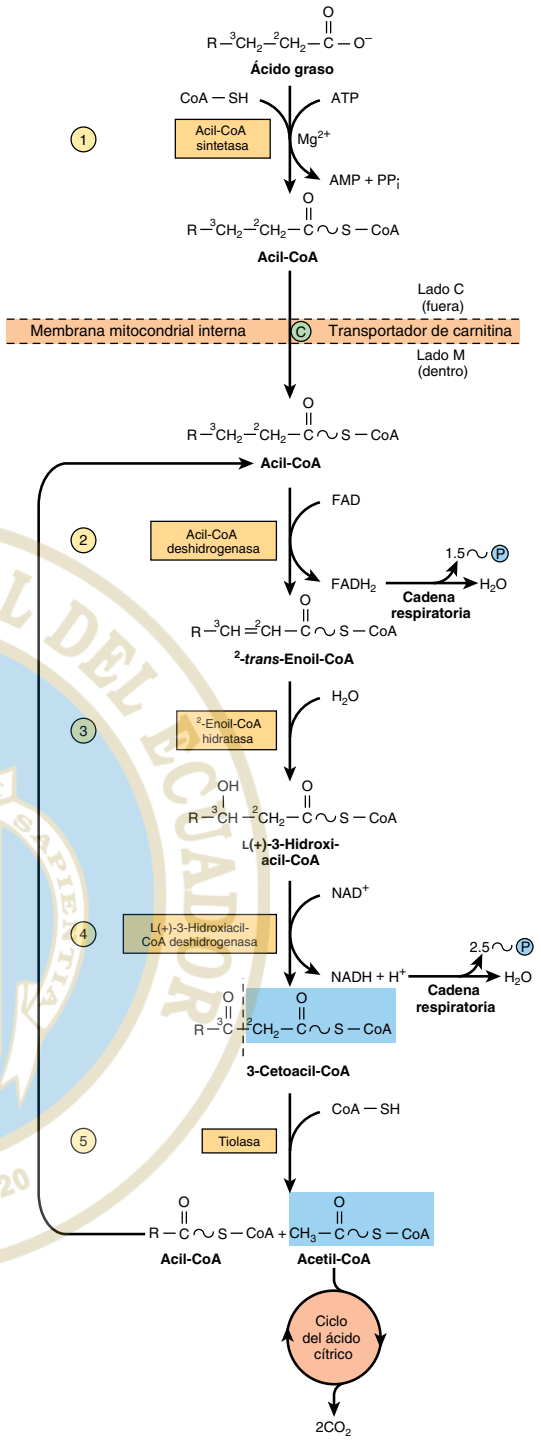


FIGURA 22-3 **β-oxidación de ácidos grasos.** La acil-CoA de cadena larga pasa por ciclos a través de reacciones ② a ⑤; cada ciclo, la tiolasa separa acetil-CoA (reacción ⑤). Cuando el radical acilo sólo tiene cuatro átomos de carbono de longitud, se forman dos moléculas de acetil-CoA en la reacción ⑤.

* ΔG para la reacción de ATP, como se explica en el capítulo 11.

CUADRO 22-1 Generación de ATP a partir de la oxidación completa de un ácido graso C16

Paso	Producto	Cantidad de producto formado (mol)/mol de palmitato	ATP formado (mol)/mol de producto	ATP total formado (mol)/mol de palmitato	ATP usado (mol)/mol de palmitato
Activación		–			2
β-Oxidación	$FADH_2$	7	1.5	10.5	–
β-Oxidación	NADH	7	2.5	17.5	–
Ciclo del ácido cítrico	Acetil CoA	8	10	80	–
	ATP total formado (mol)/mol de palmitato			108	
	ATP total usado (mol)/mol de palmitato				2

El cuadro muestra cómo la oxidación de 1 mol de ácido graso C16, palmitato, genera 106 mol de ATP (108 formados en total —2 usados en el paso de activación—).

Los peroxisomas oxidan ácidos grasos de cadena muy larga

Una forma modificada de β-oxidación se encuentra en los **peroxisomas**, y conduce a la formación de acetil-CoA y H_2O_2 (a partir del paso de deshidrogenasa enlazado a flavoproteína), que se desintegra mediante catalasa (capítulo 12). Así, esta deshidrogenación en peroxisomas no está enlazada de modo directo a fosforilación y la generación de ATP. El sistema facilita la oxidación de **ácidos grasos de cadena muy larga** (p. ej., C_{20}, C_{22}). Estas enzimas se inducen por dietas con alto contenido de grasa, y en algunas especies por fármacos hipolipemiantes como el clofibrato.

Las enzimas en peroxisomas no atacan a ácidos grasos de cadena más corta; la secuencia de β-oxidación termina en octanoil-CoA. Los grupos octanoilo y acetilo se oxidan más en las mitocondrias. Otra función de la β-oxidación peroxisómica es acortar la cadena lateral de colesterol en la formación de ácido biliar (capítulo 26). Asimismo, los peroxisomas participan en la síntesis de glicerolípidos éter (capítulo 24), colesterol y dolicol (figura 26-2).

La oxidación de ácidos grasos insaturados ocurre por medio de una vía de β-oxidación modificada

Los ésteres CoA de ácidos grasos insaturados se degradan mediante las enzimas que en circunstancias normales se encargan de la β-oxidación hasta que se forma un compuesto Δ^3-*cis*-acil-CoA o uno Δ^4-*cis*-acil-CoA, según la posición de los dobles enlaces (**figura 22-4**). El compuesto anterior se isomeriza (**Δ^3-*cis* → Δ^2-*trans*-enoil-CoA isomerasa**) hacia la etapa de β-oxidación Δ^2-*trans*-CoA correspondiente para hidratación y oxidación subsiguientes. Cualquier Δ^4-*cis*-acil-CoA que quede, como en el caso del ácido linoleico, o que entre a la vía en este punto después de conversión por la acil-CoA deshidrogenasa hacia Δ^2-*trans*-Δ^4-*cis*-dienoil-CoA, luego se metaboliza como se indica en la figura 22-4.

LA CETOGÉNESIS SUCEDE CUANDO HAY UN ÍNDICE ALTO DE OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL HÍGADO

En condiciones metabólicas relacionadas con un índice alto de oxidación de ácidos grasos, el hígado produce considerables cantidades de **acetoacetato** y **D(–)-3-hidroxibutirato** (β-hidroxibutirato). El acetoacetato pasa de manera continua por descarboxilación espontánea para dar **acetona**. Estas tres sustancias se conocen en conjunto como **cuerpos cetónicos** (también denominados cuerpos de acetona o [de modo incorrecto*] "cetonas") (**figura 22-5**). El acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son interconvertidos por la enzima mitocondrial **D(–)-3-hidroxibutirato deshidrogenasa**; el equilibrio es controlado por la proporción [NAD+]/[NADH] mitocondrial, es decir, el **estado de redox**. La concentración de cuerpos cetónicos totales en la sangre de mamíferos bien alimentados por lo normal no excede 0.2 mmol/L excepto en rumiantes, en los cuales se forma de manera continua 3-hidroxibutirato a partir de ácido butírico (un producto de la fermentación en el rumen) en la pared del rumen. *In vivo*, el hígado parece ser el único órgano en no rumiantes que contribuye con cantidades importantes de cuerpos cetónicos a la sangre. Los tejidos extrahepáticos los utilizan como sustratos respiratorios. La acetona es un producto de desecho que, puesto que es volátil, puede excretarse por medio de los pulmones. Dado que hay síntesis activa pero poca utilización de cuerpos cetónicos en el hígado, mientras que se usan en tejidos extrahepáticos, pero no se producen en los mismos, hay un flujo neto de los compuestos a los tejidos extrahepáticos (figura 22-6).

La 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) es un intermediario en la vía de la cetogénesis

Las enzimas de las cuales depende la formación de cuerpos cetónicos se relacionan sobre todo con las mitocondrias. Dos moléculas de acetil-CoA formadas en la β-oxidación se condensan para formar acetoacetil-CoA por medio de una reversión de la reac-

* El término "cetonas" no debe usarse porque el 3-hidroxibutirato no es una cetona y hay cetonas en la sangre que no son cuerpos cetónicos, como el piruvato y la fructosa.

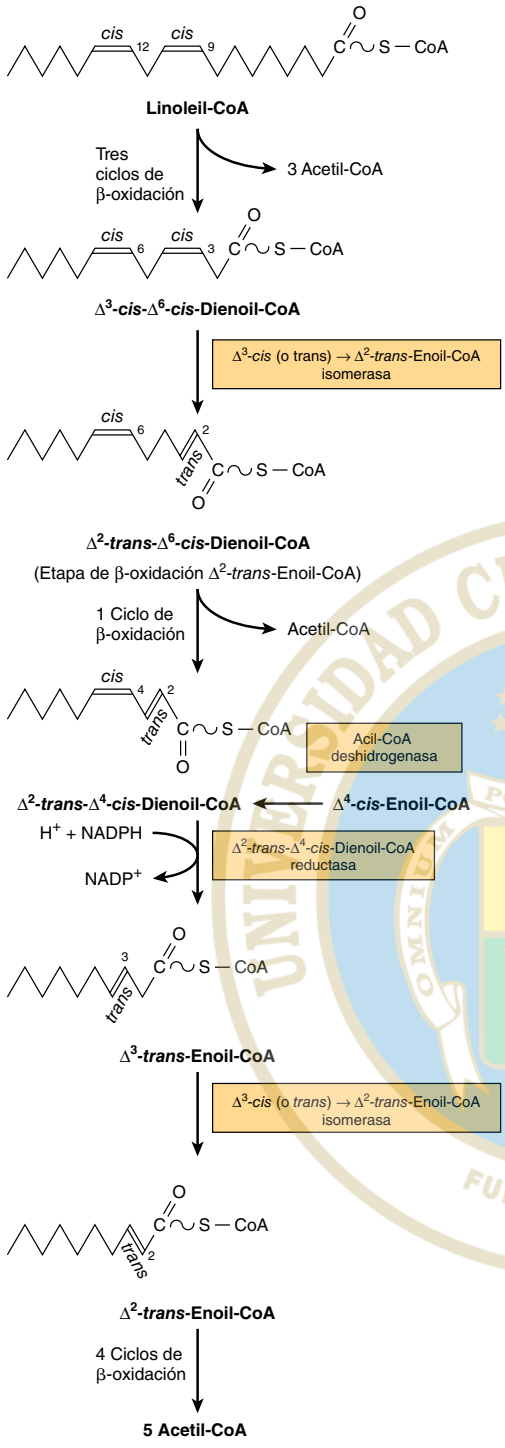


FIGURA 22-4 **Secuencia de reacciones en la oxidación de ácidos grasos insaturados, por ejemplo, ácido linoleico.** Los ácidos grasos Δ^4-*cis* o los ácidos grasos que forman Δ^4-*cis*-enoil-CoA entran a la vía en la posición mostrada. El NADPH para el paso de la dienoil-CoA reductasa es proporcionado por fuentes intramitocondriales, como la glutamato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y NAD(P)H transhidrogenasa.

ción de la **tiolasa**. La acetoacetil-CoA, que es el material inicial para la cetogénesis, también surge de modo directo a partir de los cuatro carbonos terminales de un ácido graso en el transcurso de la β-oxidación (**figura 22-7**). La condensación de acetoacetil-CoA con otra molécula de acetil-CoA mediante la

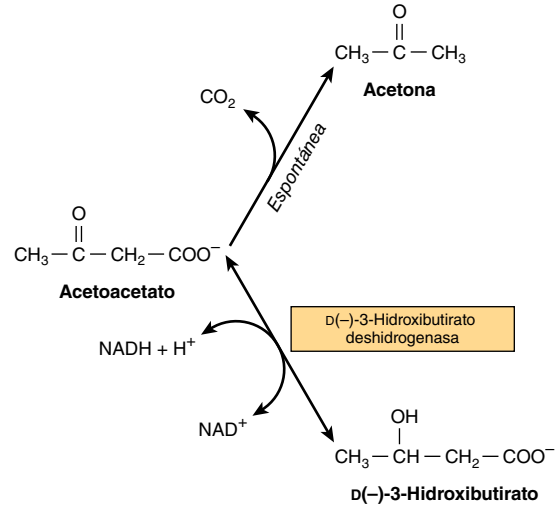


FIGURA 22-5 **Interrelaciones de los cuerpos cetónicos.** La D(–)-3-hidroxibutirato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial.

3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa forma 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (**HMG-CoA**). La **3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa** hace entonces que la acetil-CoA se separe de la HMG-CoA, lo que deja acetoacetato libre. Los átomos de carbono separados en la molécula de acetil-CoA se derivan de la molécula de acetoacetil-CoA original. **Ambas enzimas deben estar presentes en las mitocondrias para que tenga lugar la cetogénesis.** Esto sólo ocurre en el hígado y el epitelio del rumen. Desde el punto de vista cuantitativo, el D(–)-3-hidroxibutirato es el cuerpo cetónico predominante presente en la sangre y la orina cuando hay cetosis.

Los cuerpos cetónicos sirven como un combustible para tejidos extrahepáticos

Si bien un mecanismo enzimático activo produce acetoacetato a partir de acetoacetil-CoA en el hígado, el acetoacetato, una vez formado, no se puede reactivar de manera directa salvo en el citosol, donde se usa en una vía mucho menos activa como un precursor en la síntesis de colesterol (capítulo 26). Esto explica la producción neta de cuerpos cetónicos por el hígado.

En tejidos extrahepáticos, el acetoacetato se activa hacia acetoacetil-CoA por medio de la **succinil-CoA-acetoacetato CoA transferasa**. La CoA se transfiere desde la succinil-CoA para formar acetoacetil-CoA (**figura 22-8**). Con la adición de una CoA, la acetoacetil-CoA se divide en dos acetil-CoA mediante tiolasa, y se oxida en el ciclo del ácido cítrico. Si hay incremento de las cifras sanguíneas, la oxidación de cuerpos cetónicos aumenta hasta que, a una concentración de alrededor de 12 mmol/L, saturan la maquinaria oxidativa. Cuando sucede esto, una proporción grande del consumo de oxígeno puede explicarse por la oxidación de cuerpos cetónicos.

En la mayor parte de los casos, la **cetonemia se debe a incremento de la producción de cuerpos cetónicos** por el hígado, más que a una deficiencia de su utilización por los tejidos extrahepáticos. Aun cuando los tejidos extrahepáticos oxidan con facilidad el acetoacetato y el D(–)-3-hidroxibutirato, la acetona es difícil de oxidar *in vivo*, y en gran parte se volatiliza en los pulmones.

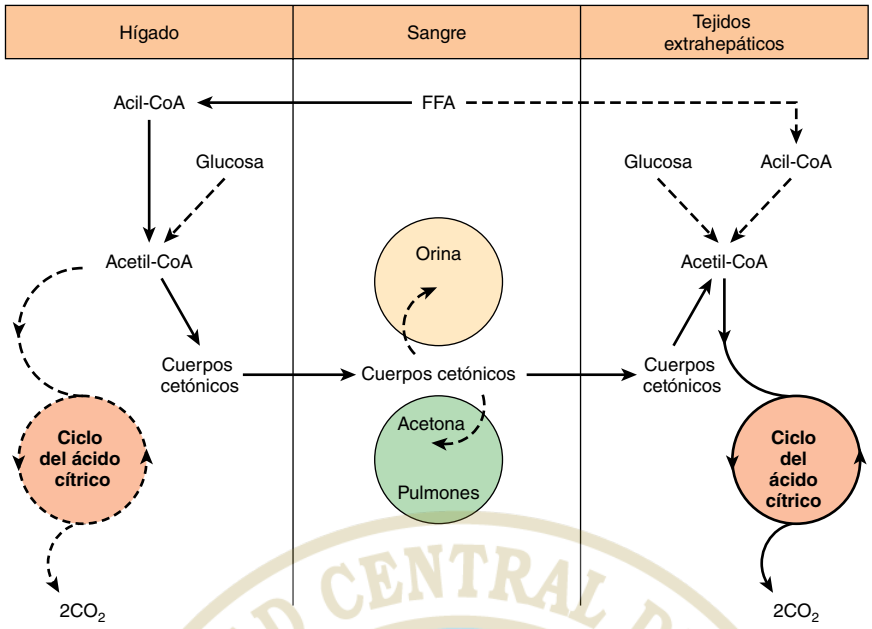


FIGURA 22-6 **Formación, utilización y excreción de cuerpos cetónicos.** (Las flechas continuas indican la principal vía).

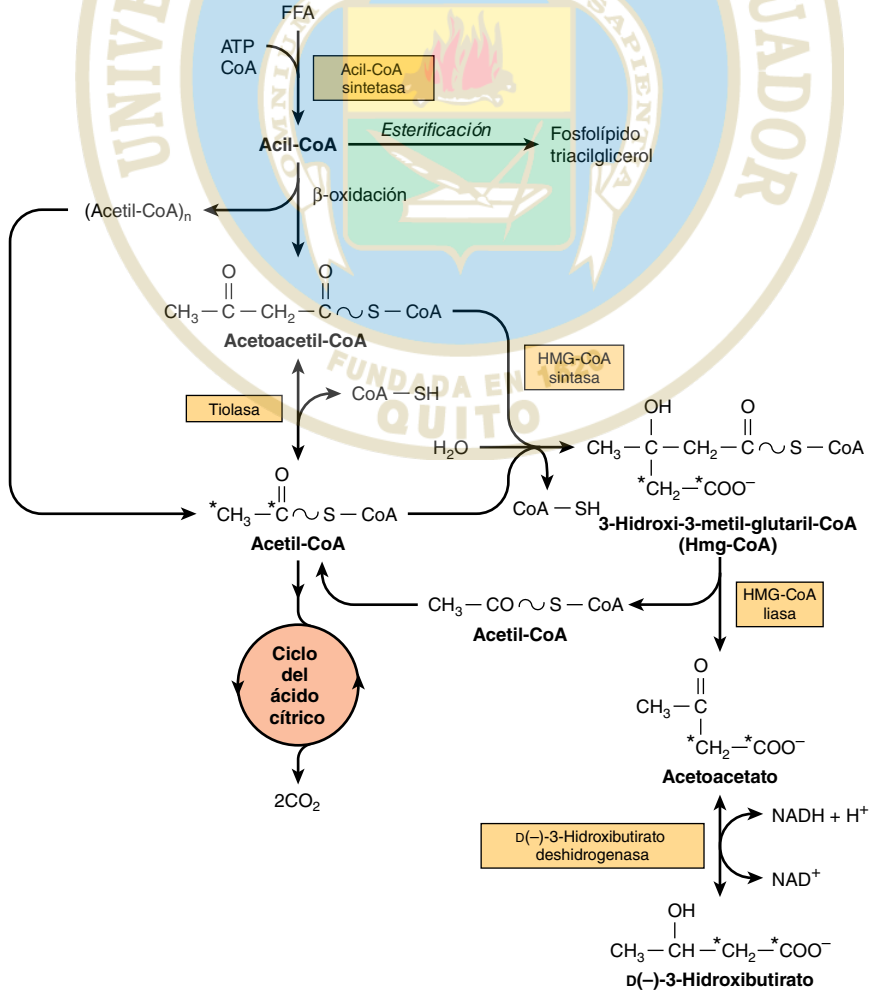


FIGURA 22-7 **Vías de la cetogénesis en el hígado.** (FFA, ácidos grasos libres).

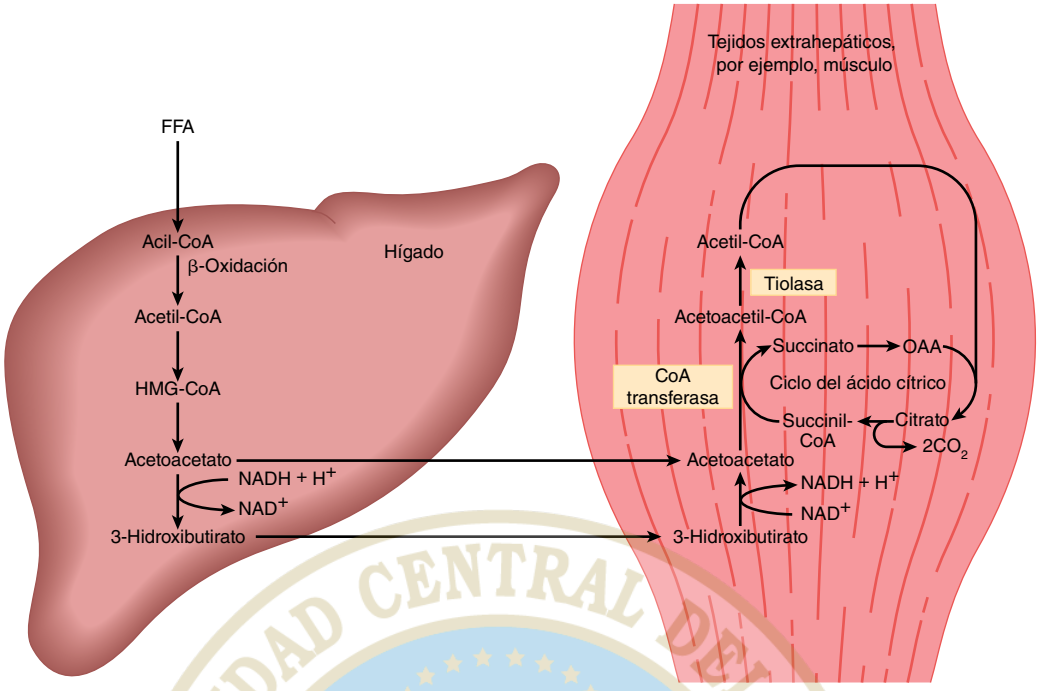


FIGURA 22-8 **Transporte de cuerpos cetónicos desde el hígado y vías de utilización y oxidación en tejidos extrahepáticos.**

En la cetonemia moderada, la pérdida de cuerpos cetónicos por medio de la orina sólo es un porcentaje bajo de la producción y utilización totales de cuerpos cetónicos. Dado que hay efectos parecidos a umbral renal (no hay un umbral verdadero) que varían entre especies e individuos, el método preferido para evaluar la gravedad de la cetosis es la medición de la cetonemia, no de la cetonuria.

LA CETOGÉNESIS ESTÁ REGULADA EN TRES PASOS CRUCIALES

1. La cetosis no sucede *in vivo* a menos que haya un aumento de las cifras de FFA circulantes que surgen a partir de lipólisis de triacilglicerol en tejido adiposo. **Los FFA son los precursores de cuerpos cetónicos en el hígado**; este último, en condiciones tanto posprandiales como de ayuno, extrae alrededor de 30% de los FFA que pasan por él, de modo que a concentraciones altas el flujo que pasa hacia el hígado es considerable. **Por ende, los factores que regulan la movilización de FFA desde el tejido adiposo son importantes en el control de la cetogénesis** (**figuras 22-9** y 25-8).
2. Después de captación por el hígado, los FFA son objeto de **β-oxidación** hacia CO_2 o cuerpos cetónicos, o de **esterificación** hacia triacilglicerol y fosfolípido. Hay regulación de la entrada de ácidos grasos hacia la vía oxidativa mediante la **carnitina palmitoiltransferasa-I** (CPT-I) (figura 22-1), y el resto de los ácidos grasos captados se esterifica. La actividad de CPT-I es baja en el estado posprandial, lo que da pie a depresión de la oxidación de ácidos grasos, y alta en la inanición, lo que permite que haya incremento de la oxidación de ácidos grasos. La **malonil-CoA**, el intermediario

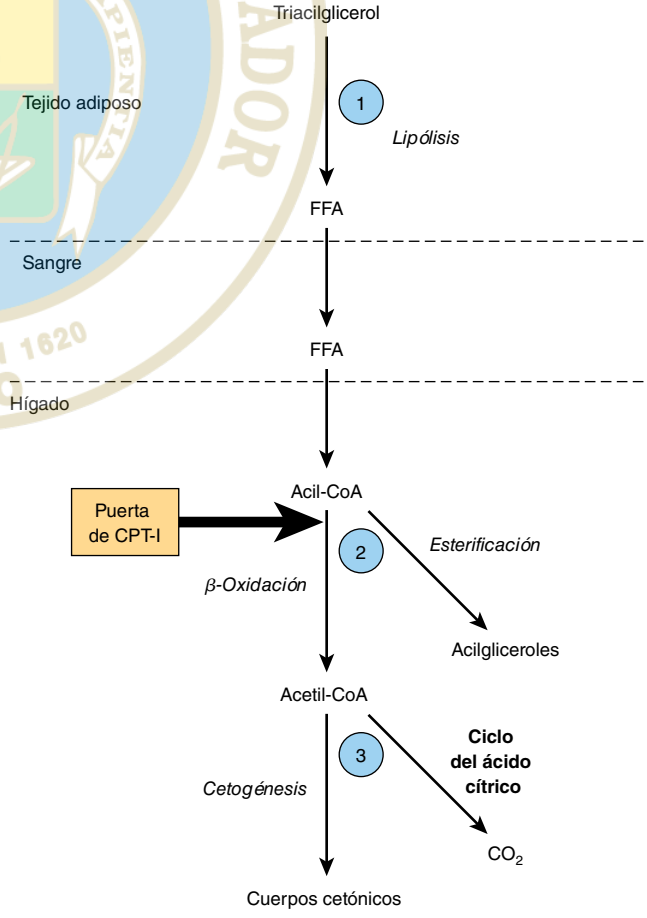


FIGURA 22-9 **Regulación de la cetogénesis.** ① a ③ muestran tres pasos cruciales en la vía del metabolismo de FFA que determinan la magnitud de la cetogénesis. (CPT-I, carnitina palmitoiltransferasa-I.)

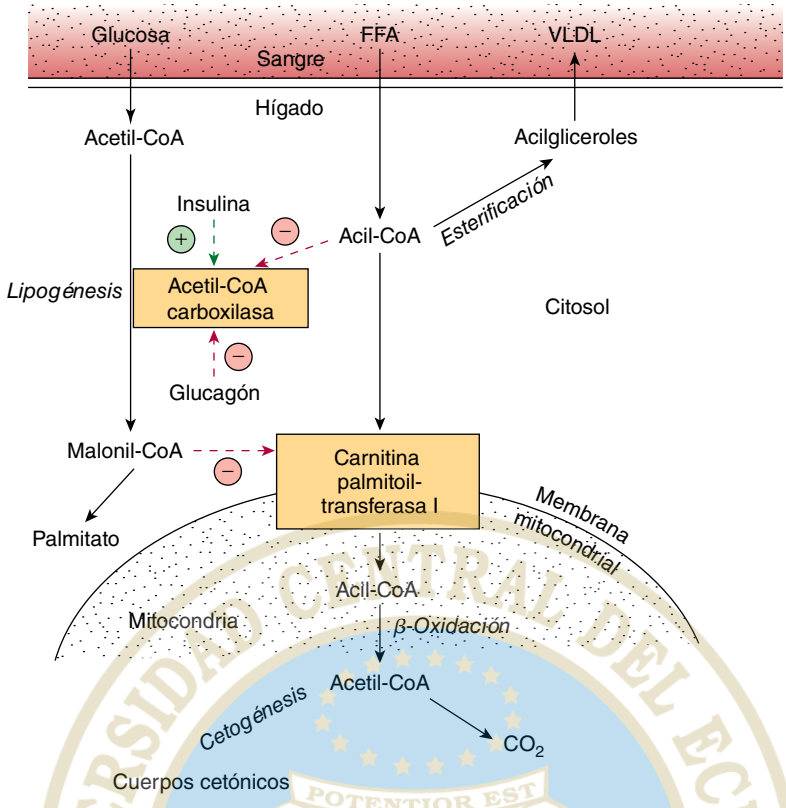


FIGURA 22-10 Regulación de la oxidación de ácidos grasos de cadena larga en el hígado. (FFA, ácidos grasos libres; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.) Los efectos reguladores positivo (⊕) y negativo (⊖) están representados mediante flechas discontinuas, y el flujo de sustrato por flechas continuas.

inicial en la biosíntesis de ácidos grasos (figura 23-1), formado por la acetil-CoA carboxilasa en el estado posprandial, es un potente inhibidor de la CPT-I (**figura 22-10**). En estas circunstancias, los FFA entran a la célula hepática en cifras bajas, y casi todos se esterifican hacia acilgliceroles y se transportan hacia afuera del hígado en **lipoproteínas de muy baja densidad** (VLDL). Empero, conforme la concentración de FFA aumenta con el inicio de inanición, la acil-CoA inhibe de manera directa a la acetil-CoA carboxilasa, y la (malonil-CoA) disminuye, lo que libera la inhibición de la CPT-I y permite que más acil-CoA pase por β-oxidación. Estos eventos se refuerzan en la inanición por un decremento de la **proporción (insulina)/(glucagón)**. Así, la β-oxidación por FFA está controlada por la puerta de CPT-I hacia la mitocondria, y el saldo de la captación de FFA no oxidado es esterificado.

3. Por su parte, la acetil-CoA formada en la β-oxidación se oxida en el ciclo del ácido cítrico, o entra en la vía de la cetogénesis para formar cuerpos cetónicos. A medida que las cifras de FFA séricos se incrementan, proporcionalmente más FFA se convierte en cuerpos cetónicos, y menos se oxida por medio del ciclo del ácido cítrico hacia CO_2. La partición de acetil-CoA entre la vía cetogénica y la vía de oxidación hacia CO_2 está regulada de modo que la energía libre total captada en ATP que se produce por la oxidación de FFA permanece constante conforme su concentración en el suero cambia. Esto se aprecia cuando se comprende que la oxidación completa de 1 mol de palmitato implica una producción neta de 106 mol de ATP mediante β-oxidación y producción de CO_2 en el ciclo del ácido cítrico (véase antes), mientras que sólo se producen 26 mol de ATP cuando el acetoacetato es el producto terminal, y sólo 21 mol cuando el 3-hidroxibutirato es dicho producto. De esta manera, la cetogénesis puede considerarse un mecanismo que permite al hígado oxidar cantidades crecientes de ácidos grasos dentro de las restricciones de un sistema estrechamente acoplado de fosforilación oxidativa.

Una aminoración de las cifras de oxaloacetato, en particular dentro de la mitocondria, es posible que altere la capacidad del ciclo del ácido cítrico para metabolizar acetil-CoA y desviar la oxidación de ácidos grasos hacia la cetogénesis. Esa disminución puede ocurrir debido a un aumento de la proporción (NADH)/(NAD^+) suscitado por incremento de la β-oxidación de ácidos grasos que afecta el equilibrio entre oxaloacetato y malato, lo que lleva a un decremento de la concentración de oxaloacetato, y cuando la gluconeogénesis está alta, lo que sobreviene cuando las cifras sanguíneas de glucosa son bajas. La activación de piruvato carboxilasa, que cataliza la conversión de piruvato en oxaloacetato, por medio de acetil-CoA, alivia en forma parcial este problema, pero en circunstancias como inanición y diabetes mellitus no tratada, los cuerpos cetónicos se producen en exceso, lo que origina cetosis.

ASPECTOS CLÍNICOS

La oxidación alterada de ácidos grasos da lugar a enfermedades que suelen mostrar vínculo con hipoglucemia

La **deficiencia de carnitina** puede aparecer sobre todo en el recién nacido —de modo particular en lactantes pretérmino— debido a biosíntesis inadecuada o escape renal. Las pérdidas también llegan a suceder en la hemodiálisis. Ello sugiere que en algunos enfermos el requerimiento de carnitina en la dieta es parecido al de una vitamina. Los síntomas de deficiencia son hipoglucemia, que es una consecuencia de oxidación alterada de ácidos grasos, y acumulación de lípido con debilidad muscular. El tratamiento consta de complementos de carnitina por vía oral.

La **deficiencia** hereditaria de **CPT-I** sólo afecta el hígado y ocasiona oxidación de ácidos grasos y cetogénesis reducidas, con hipoglucemia. La **deficiencia de CPT-II** afecta de modo primario el músculo estriado y, cuando es grave, el hígado. Los medicamentos sulfonilurea (**gliburida [glibenclamida]** y **tolbutamida**), usados en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, reducen la oxidación de ácidos grasos y, por consiguiente, la hiperglucemia al inhibir la CPT-I.

Los defectos hereditarios de las enzimas de la β-oxidación y de la cetogénesis también llevan a hipoglucemia no cetótica, coma e hígado graso. Se conocen defectos en la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadenas larga y corta (la deficiencia de la enzima de cadena larga puede ser una causa de **hígado graso agudo del embarazo**). La **deficiencia de 3-cetoacil-CoA tiolasa** y de **HMG-CoA liasa** también afecta la degradación de leucina, un aminoácido cetogénico (capítulo 29).

La **enfermedad del vómito jamaicano** se produce por comer la fruta no madura del árbol *Blighia sapida*, que contiene la toxina **hipoglicina**, la cual desactiva a la acil-CoA deshidrogenasa de cadenas media y corta, lo que inhibe la β-oxidación y origina hipoglucemia. La **aciduria dicarboxílica** se caracteriza por la excreción de ácidos C_6–C_{10} ω-dicarboxílicos y por hipoglucemia no cetósica, y se produce por una falta de **acil-CoA deshidrogenasa de cadena media** mitocondrial. La **enfermedad de Refsum** es un raro trastorno neurológico debido a un defecto metabólico que causa la acumulación de ácido fitánico, que se encuentra en productos lácteos, y en la grasa y carne de rumiantes. Se cree que dicho ácido tiene efectos patológicos sobre la fusión de membrana, la prenilación de proteína y la expresión de gen. El **síndrome de Zellweger (cerebrohepatorrenal)** ocurre en individuos que tienen una rara falta hereditaria de peroxisomas en todos los tejidos. Acumulan ácidos C_{26}-C_{38} polienoicos en el tejido cerebral, y muestran una pérdida generalizada de funciones de peroxisomas. La enfermedad suscita síntomas neurológicos graves y la mayoría de los sujetos muere en el transcurso del primer año de vida.

La cetoacidosis se produce por cetosis prolongada

La presencia de cantidades más altas que lo normal de cuerpos cetónicos en la sangre o la orina constituye la **cetonemia** (hipercetonemia) o **cetonuria**, respectivamente. El estado general se llama **cetosis**. La forma básica de la cetosis sucede en la **inanición**, y comprende agotamiento del carbohidrato disponible junto con movilización de FFA. Este modelo general de metabolismo se exagera para producir los estados patológicos que se encuentran en la **diabetes mellitus, la forma tipo 2 de la cual es cada vez más frecuente en países occidentales; la enfermedad de los corderos gemelos,** y la **cetosis en ganado vacuno en lactación**. Las formas no patológicas de cetosis se encuentran en situaciones de alimentación con alto contenido de grasa y luego de ejercicio intenso durante el estado posterior a la absorción.

Los ácidos acetoacético y 3-hidroxibutírico son moderadamente fuertes, y están amortiguados cuando están presentes en sangre u otros tejidos. Con todo, su excreción continua en gran cantidad agota de manera progresiva la reserva de álcalis, lo que produce **cetoacidosis.** Esto puede ser mortal en la **diabetes mellitus** no controlada.

RESUMEN

- La oxidación de ácidos grasos en las mitocondrias conduce a la generación de grandes cantidades de ATP mediante un proceso llamado β-oxidación que divide unidades de acetil-CoA de modo secuencial a partir de cadenas de acil graso. La acetil-CoA se oxida en el ciclo del ácido cítrico, lo que genera más ATP.
- Los cuerpos cetónicos (acetoacetato, 3-hidroxibutirato y acetona) se forman en las mitocondrias hepáticas, cuando hay un índice alto de oxidación de ácidos grasos. La vía de la cetogénesis incluye síntesis y desintegración de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por medio de dos enzimas clave, la HMG-CoA sintasa y la HMG-CoA liasa.
- Los cuerpos cetónicos son combustibles importantes en tejidos extrahepáticos.
- La cetogénesis está regulada en tres pasos cruciales: 1) el control de la movilización de FFA desde el tejido adiposo; 2) la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa-I en el hígado, que determina la proporción del flujo de ácidos grasos que se oxida en lugar de esterificarse, y 3) partición de acetil-CoA entre la vía de la cetogénesis y el ciclo del ácido cítrico.
- Las enfermedades relacionadas con deterioro de la oxidación de ácidos grasos llevan a hipoglucemia, infiltración grasa de órganos, e hipocetonemia.
- La cetosis es leve en la inanición pero grave en la diabetes mellitus y en la cetosis de rumiantes.

REFERENCIAS

Eaton S, Bartlett K, Pourfarzam M: Mammalian mitochondrial β-oxidation. Biochem J 1996;320:345.

Fukao T, Lopaschuk GD, Mitchell GA: Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid metabolism. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2004;70:243.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn K: *Lipid Biochemistry*. Blackwell Publishing, 2002.

Houten SM, Wanders RJA: A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β-oxidation. J Inherit Metab Dis 2010;33:469.

Scriver CR, Beaud*et AL*, Sly WS, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Van Veldhoven PP: Biochemistry and genetics of inherited disorders of peroxisomal fatty acid metabolism. J Lipid Res 2010;51:2863.

Wood PA: Defects in mitochondrial beta-oxidation of fatty acids. Curr Opin Lipidol 1999;10:107.

CAPÍTULO 23

Biosíntesis de ácidos grasos y eicosanoides

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la reacción catalizada por la acetil-CoA carboxilasa y entender los mecanismos mediante los cuales se regula su actividad para controlar la tasa de síntesis de ácidos grasos.
- Esbozar la estructura del complejo multienzimático de la ácido graso sintasa, indicando la secuencia de enzimas en las dos cadenas peptídicas del homodímero.
- Explicar cómo los ácidos grasos de cadena larga son sintetizados por medio de la condensación repetida de dos unidades de carbono, con favorecimiento de la formación del palmitato de 16 carbonos en casi todos los tejidos, e identificar los cofactores requeridos.
- Indicar las fuentes de equivalentes reductores (NADPH) para la síntesis de ácidos grasos.
- Entender cómo el estado nutricional regula la síntesis de ácidos grasos, e identificar otros mecanismos de control que operan además de la modulación de la actividad de la acetil-CoA carboxilasa.
- Identificar los ácidos grasos esenciales desde el punto de vista nutricional, y explicar por qué no se pueden sintetizar en el organismo.
- Explicar cómo los ácidos grasos poliinsaturados son sintetizados mediante desaturasa y enzimas de alargamiento.
- Esbozar las vías de la ciclooxigenasa y de la lipooxigenasa de las cuales depende la formación de las diversas clases de eicosanoides.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los ácidos grasos se sintetizan por medio de un **sistema extramitocondrial** que se encarga de la síntesis completa de palmitato a partir de acetil-CoA en el citosol. En casi todos los mamíferos, la glucosa es el sustrato primario para la lipogénesis, pero en rumiantes es el acetato, la principal molécula combustible producida por la dieta. En seres humanos no se han informado enfermedades cruciales de la vía. Sin embargo, en la **diabetes mellitus** tipo 1 (insulinodependiente) hay inhibición de la lipogénesis, y las variaciones en la actividad del proceso influyen sobre la naturaleza y extensión de la **obesidad**.

Los ácidos grasos insaturados en fosfolípidos de la membrana celular tienen importancia en el mantenimiento de la fluidez de la membrana (capítulo 40). Se considera que una proporción entre ácidos grasos poliinsaturados y saturados (proporción P:S) alta en la dieta es beneficiosa para prevenir cardiopatía coronaria. Los tejidos animales tienen capacidad limitada para desaturar ácidos grasos, y requieren ciertos ácidos grasos poliinsaturados provenientes de la dieta, derivados de vegetales. Estos **ácidos grasos esenciales** se usan para formar ácidos grasos eicosanoicos (C_{20}), que dan lugar a los **eicosanoides** prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas. Las prostaglandinas median la **inflamación** y el **dolor** e inducen el **sueño**; también regulan la **coagulación de la sangre** y la **reproducción**. Los **antiinflamatorios no esteroideos (NSAID)**, como el ácido acetilsalicílico (**aspirina**) y el **ibuprofeno**, actúan al inhibir la síntesis de prostaglandina. Los leucotrienos tienen propiedades de contracción muscular y quimiotácticas, y son importantes en reacciones alérgicas e inflamación.

LA PRINCIPAL VÍA PARA LA SÍNTESIS *DE NOVO* DE ÁCIDOS GRASOS (LIPOGÉNESIS) OCURRE EN EL CITOSOL

Este sistema está presente en muchos tejidos, entre ellos hepático, renal, pulmonar, de la glándula mamaria y adiposo. Sus requerimientos de cofactor incluyen NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina y HCO_3^- (una fuente de CO_2). La **acetil-CoA** es el sustrato inmediato y el **palmitato libre** es el producto terminal.

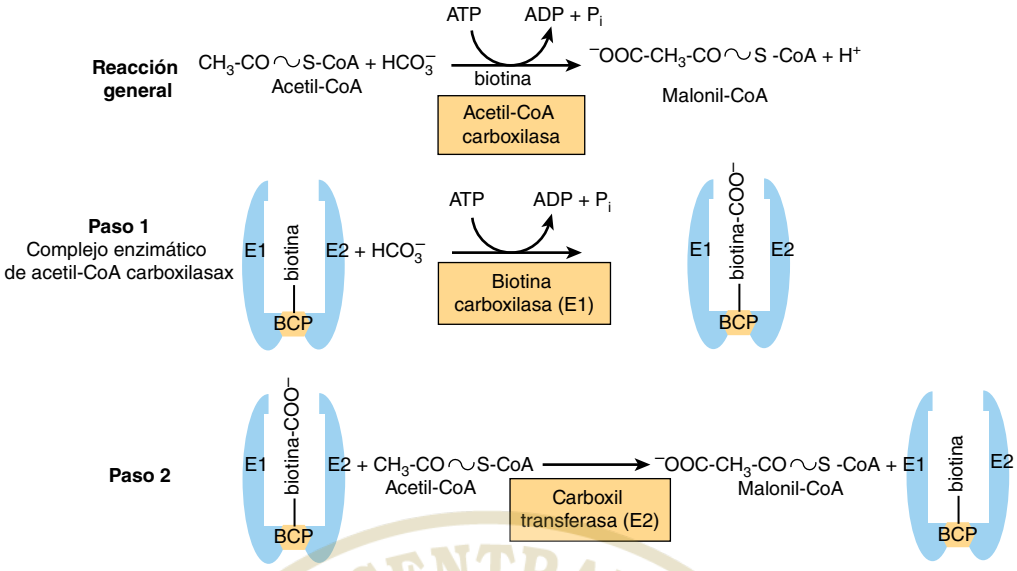


FIGURA 23-1 Biosíntesis de malonil-CoA por la acetil carboxilasa. La acetil carboxilasa es un complejo multienzimático que contiene dos enzimas, la biotina carboxilasa (E1) y una carboxiltransferasa (E2), y la proteína transportadora de biotina (BCP). La biotina está enlazada de manera covalente a la BCP. La reacción procede en dos pasos. En el paso 1, catalizado por la E1, la biotina es carboxilada a medida que acepta un grupo COO^- desde HCO_3^- y se usa ATP. En el paso 2, catalizado por la E2, el COO^- es transferido a la acetil-CoA, lo cual forma malonil-CoA.

La producción de malonil-CoA es el paso inicial y controlador en la síntesis de ácidos grasos

El bicarbonato como una fuente de CO_2 se requiere en la reacción inicial para la carboxilación de acetil-CoA a **malonil-CoA** en presencia de ATP y **acetil-CoA carboxilasa**. Esta enzima tiene un papel importante en la regulación de la síntesis de ácidos grasos (véase más adelante). La acetil-CoA carboxilasa tiene un requerimiento de la vitamina B **biotina**, y es una **proteína multienzimática** que contiene biotina, biotina carboxilasa, proteína transportadora de biotina carboxilo, y una carboxil transferasa, así como un sitio alostérico regulador. Una subunidad del complejo contiene todos los componentes, y un número variable de subunidades forman polímeros en la enzima activa (figura 23-6). La reacción tiene lugar en dos pasos: 1) carboxilación de biotina que comprende ATP y 2) transferencia del grupo carboxilo a la acetil-CoA para formar malonil-CoA (**figura 23-1**)

El complejo de ácido graso sintasa es un homodímero de dos cadenas polipeptídicas que contiene seis actividades enzimáticas

Después de la formación de la malonil-CoA, se forman ácidos grasos mediante el **complejo enzimático ácido graso sintasa**. Las enzimas individuales requeridas para la síntesis de ácidos grasos están enlazadas en este complejo polipeptídico multienzimático que incorpora la **proteína transportadora de acilo (ACP)**, que tiene una función similar a la CoA en la vía de la β-oxidación (capítulo 22). Contiene la vitamina **ácido pantoténico** en la forma de 4' fosfopanteteína (figura 44-18). En la estructura primaria de la proteína, los dominios enzimáticos están enlazados en la secuencia que se muestra en la **figura 23-2**. Sin embargo, la cristalografía de rayos X de la estructura tridimensional ha mostrado que el complejo es un homodímero, con dos subunidades idénticas, cada una de las cuales contiene seis enzimas y una ACP, dispuestas en forma de X (figura 23-2). La posición de la ACP y de los dominios tioesterasa todavía no puede resolverse mediante cristalografía de rayos X, posiblemente porque son demasiado flexibles, pero se cree que yacen cerca de la enzima 3-cetoacil-reductasa. El uso de una unidad funcional de múltiples enzimas plantea las ventajas de lograr el efecto de compartamentalización del proceso dentro de la célula sin erigir barreras de permeabilidad y la síntesis de todas las enzimas en el complejo está coordinada, dado que un solo gen la codifica.

Inicialmente, una molécula cebadora de acetil-CoA se combina con un grupo —SH cisteína (**figura 23-3**, reacción 1a), mientras que la malonil-CoA se combina con el —SH adyacente en la 4′-fosfopanteteína de la ACP del otro monómero (reacción 1b). Estas reacciones son catalizadas por la **malonil** acetil **transacilasa**, para formar la **enzima acetil (acil)-malonil**. El grupo acetilo ataca al grupo metileno del residuo malonilo, lo cual es catalizado por la **3-cetoacil sintasa**, y libera CO_2; esto forma enzima 3-cetoacil (enzima acetoacetil) (reacción 2) y libera el grupo —SH de la cisteína. La descarboxilación permite que la reacción avance hasta que se completa, lo que impulsa toda la secuencia de reacciones en dirección anterógrada. El grupo 3-cetoacilo se reduce, deshidrata y reduce de nuevo (reacciones 3-5) para formar la acil-S-enzima saturada correspondiente. Una nueva molécula de malonil-CoA se combina con el —SH de la 4′-fosfopanteteína, lo que desplaza el residuo acilo saturado sobre el grupo —SH de cisteína libre. La secuencia de reacciones se repite seis veces más hasta que se ha montado un radical acilo de 16 carbonos saturado (palmitoil). Se libera del complejo enzimático mediante la actividad de la sexta enzima en el complejo, la **tioesterasa** (desacilasa). Es necesario que el palmitato libre se

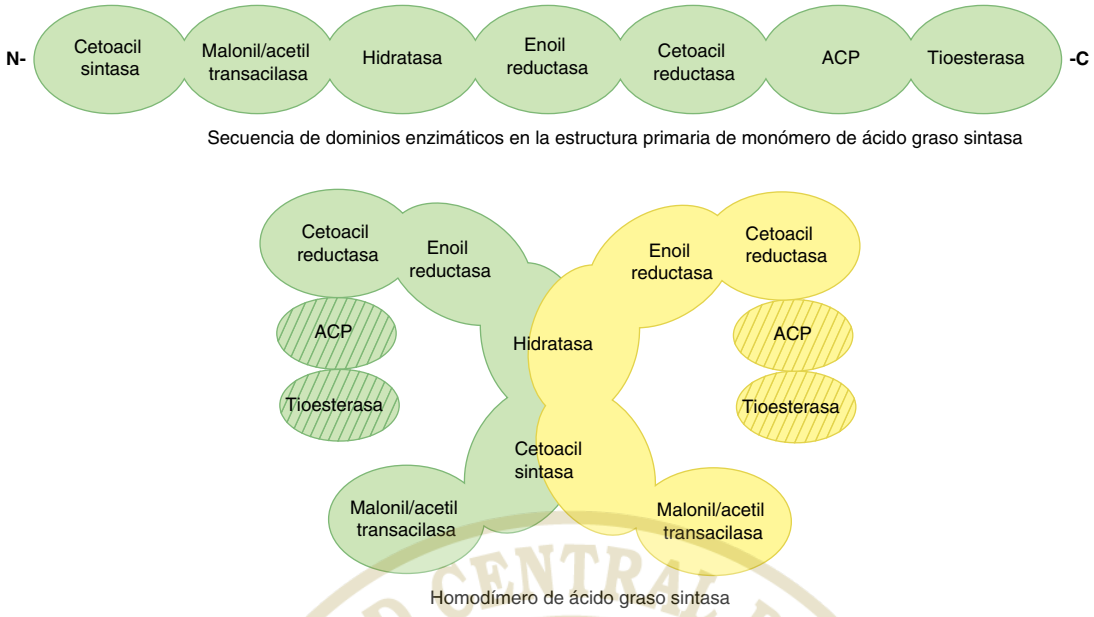


FIGURA 23-2 **Complejo multienzimático de la ácido graso sintasa.** El complejo es un dímero de dos monómeros polipeptídicos idénticos en los cuales seis enzimas y la proteína transportadora de acilo (ACP) están enlazadas en la estructura primaria en la secuencia que se muestra. La cristalografía de rayos X de la estructura tridimensional ha demostrado que los dos monómeros en el complejo están dispuestos en forma de X. La posición de la ACP y de la tioesterasa aún no se resuelve, pero se cree que están cerca del dominio de la enzima 3 cetoacilreductasa.

active hacia acil-CoA antes de que pueda proceder por medio de cualquier otra vía metabólica. Sus posibles destinos son la esterificación hacia acilgliceroles, alargamiento o desaturación de cadena, o esterificación hacia éster de colesterol. En la glándula mamaria, hay una tioesterasa separada específica para residuos acilo de C_8, C_{10} o C_{12}, que después se encuentra en los lípidos de la leche.

La ecuación para la síntesis general de palmitato a partir de acetil-CoA y malonil-CoA es:

$$CH_3CO—S—CoA + 7HOOCCHCO—S—CoA + 14NADPH + 14H^+ \rightarrow CH_3(CH_2)_{14}COOH + 7CO_2 + 6H_2O + 8CoA—SH + 14NADP^+$$

La acetil-CoA que se usa como un preparador forma los átomos de carbono 15 y 16 del palmitato. La adición de todas las unidades C_2 subsiguientes se efectúa mediante la malonil-CoA. La propionil-CoA actúa como un preparador para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga que tienen un número impar de átomos de carbono, que se encuentran sobre todo en la grasa y la leche de rumiantes.

La principal fuente de NADPH para la lipogénesis es la vía de la pentosa fosfato

El NADPH está involucrado como donador de equivalentes reductores en la reducción de derivados tanto 3-cetoacilo como de 2,3-acilo insaturado (figura 23-3, reacciones 3 y 5). Las reacciones oxidativas de la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20) son la principal fuente del hidrógeno necesario para la síntesis reductiva de ácidos grasos. Es importante el hecho de que los tejidos especializados en la lipogénesis activa —es decir, el hígado, el tejido adiposo y la glándula mamaria en lactación— también poseen una vía de pentosa fosfato activa. Además, ambas vías metabólicas se encuentran en el citosol de la célula; así, no hay membranas o barreras de permeabilidad contra la transferencia de NADPH. Otras fuentes de este último comprenden la reacción que convierte malato en piruvato catalizada por la **"enzima málica"** (NADP malato deshidrogenasa) (**figura 23-4**) y la reacción de **isocitrato deshidrogenasa** extramitocondrial (que quizá no es una fuente considerable, excepto en rumiantes).

La acetil-CoA es el principal bloque de construcción de ácidos grasos

La acetil-CoA se forma a partir de glucosa mediante la oxidación de piruvato en la matriz de las mitocondrias. Sin embargo, puesto que no se difunde fácilmente a través de las membranas mitocondriales, su transporte hacia el citosol, el principal sitio de síntesis de ácidos grasos, requiere un mecanismo especial que comprende **citrato**. Después de condensación de la acetil-CoA con oxaloacetato en el ciclo del ácido cítrico dentro de las mitocondrias, el citrato que se produce puede translocarse hacia el compartimiento extramitocondrial por medio del transportador de tricarboxilato, donde en presencia de CoA y ATP, pasa por división a acetil-CoA y oxaloacetato catalizada por la **ATP-citrato liasa**, cuya actividad aumenta en el estado de buena alimentación. La acetil-CoA entonces queda disponible para la formación y síntesis de malonil-CoA para palmitato (figura 23-4). El oxaloacetato resultante puede formar malato por medio de la malato deshidrogenasa enlazada a NADH, lo cual va seguido por la generación de NADPH mediante la enzima málica. El NADPH queda disponible para lipogénesis, y el piruvato puede usarse para regenerar acetil-CoA después de transporte hacia la mitocondria. Esta vía

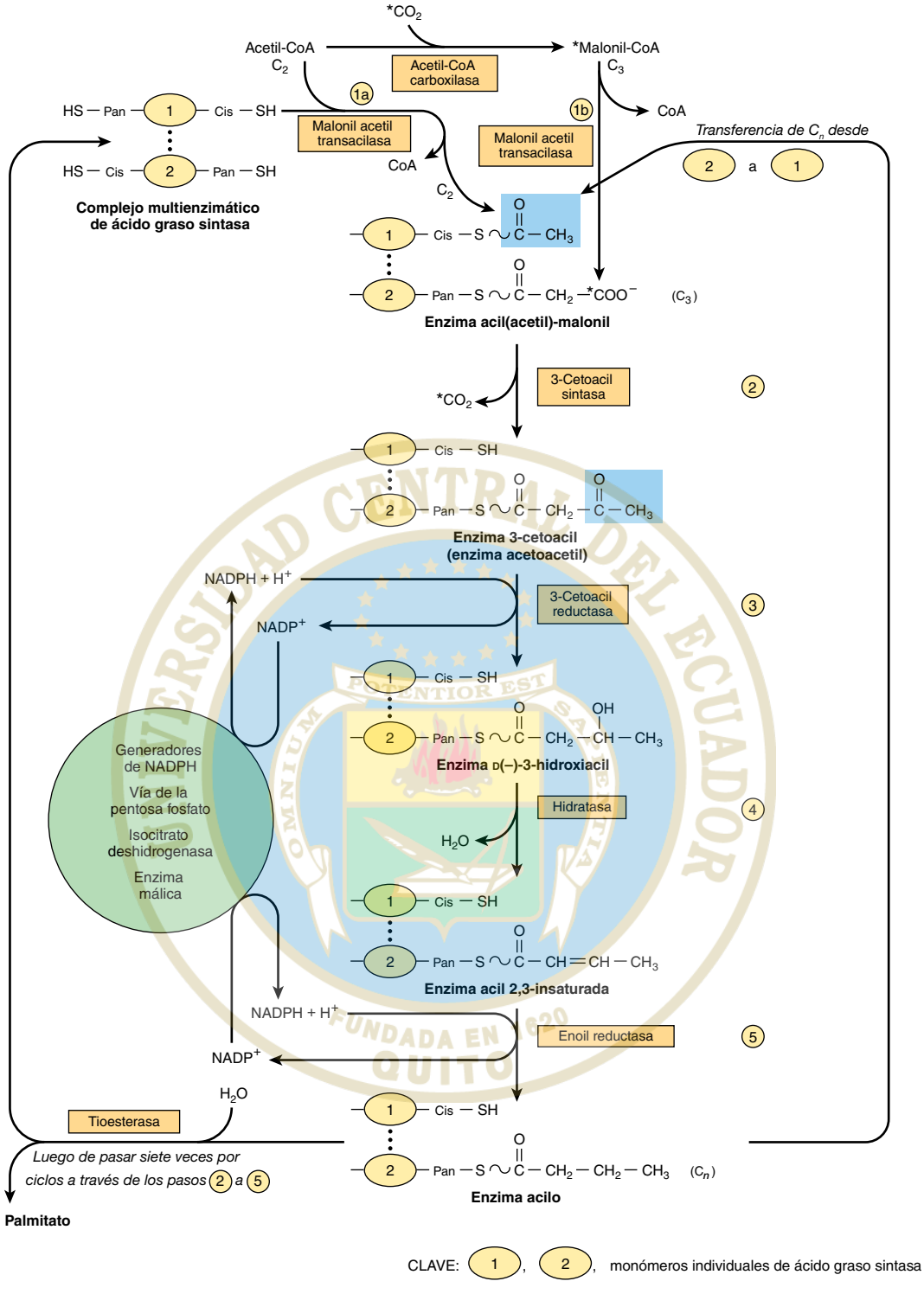


FIGURA 23-3 Biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga. Detalles de cómo la adición de un residuo malonilo hace que la cadena acilo crezca por dos átomos de carbono. (Cis, residuo cisteína; Pan, 4′-fosfopanteteína). Los bloques resaltados en azul contienen en un inicio una unidad C_2 derivada de acetil-CoA (según se ilustra) y después la unidad C_n formada en la reacción 5.

es un medio de transferir equivalentes reductores desde NADH hacia NADP extramitocondriales. De modo alternativo, el malato mismo puede transportarse hacia la mitocondria, donde tiene la capacidad para volver a formar oxaloacetato. Note que el transportador de citrato (tricarboxilato) en la membrana mitocondrial requiere malato para intercambio con citrato (figura 13-10). Hay poca ATP-citrato liasa o enzima málica en rumiantes, probablemente porque en estas especies el acetato (derivado de la digestión de carbohidratos en el rumen, y activado hacia acetil-CoA fuera de la mitocondria) es la principal fuente de acetil-CoA.

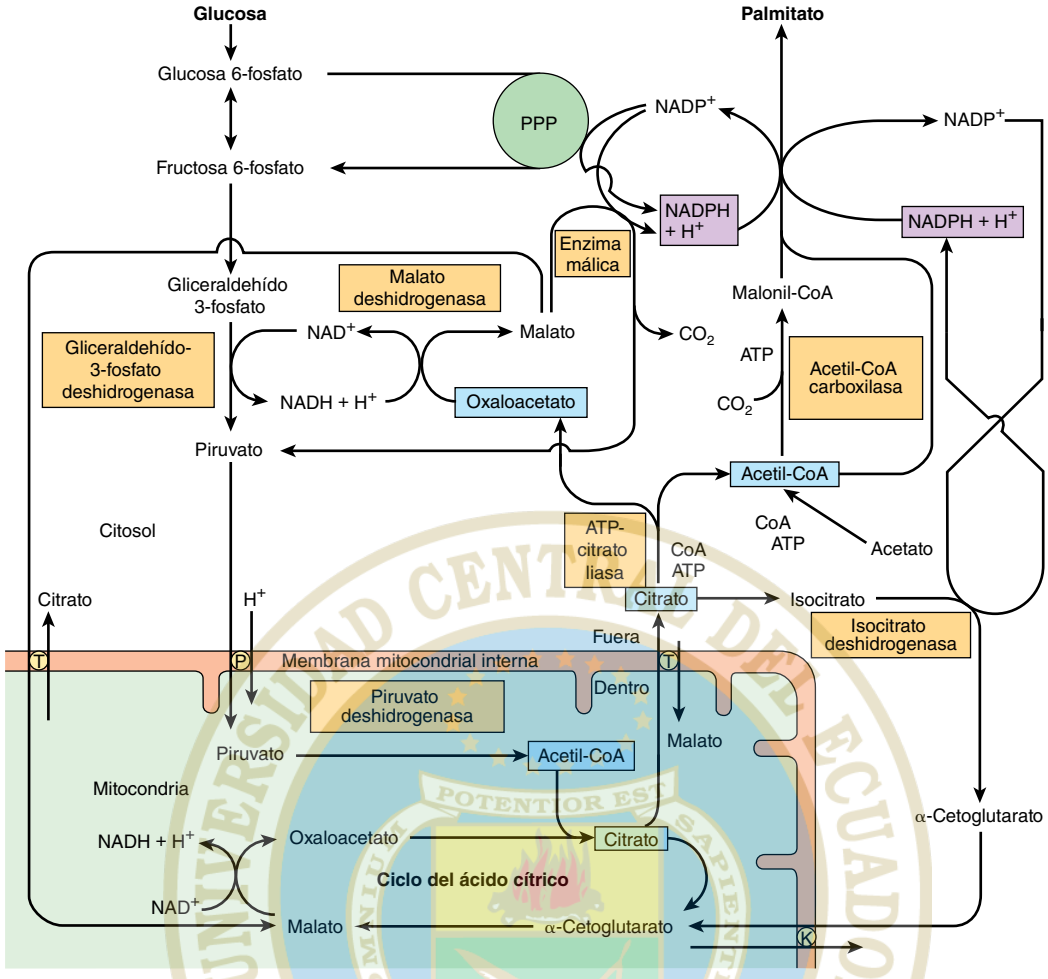


FIGURA 23-4 **El suministro de acetil-CoA y NADPH para la lipogénesis.** (PPP, vía de la pentosa fosfato; T, transportador de tricarboxilato; K, transportador de α-cetoglutarato; P, transportador de piruvato).

La elongación de cadenas de ácido graso sucede en el retículo endoplásmico

Esta vía (el **"sistema microsómico"**) alarga dos carbonos acil-CoA grasas saturadas e insaturadas (desde C_{10} en adelante), usando malonil-CoA como el donador de acetilo, y NADPH como el reductor, y es catalizada por el sistema de enzimas de **ácido graso elongasa** microsómico (**figura 23-5**). La elongación de estearil-CoA en el cerebro se incrementa con rapidez durante la mielinización con el fin de proporcionar ácidos grasos C_{22} y C_{24} para esfingolípidos.

EL ESTADO NUTRICIONAL REGULA LA LIPOGÉNESIS

El carbohidrato excesivo se almacena como grasa en muchos animales en anticipación de periodos de deficiencia calórica, como inanición, hibernación, etc., y para proporcionar energía para uso entre las comidas en animales, incluso seres humanos, que toman sus alimentos a intervalos espaciados. La lipogénesis convierte la glucosa excedente e intermediarios como piruvato, lactato y acetil-CoA, en grasa, lo que ayuda a la fase anabólica de este ciclo de alimentación. El estado nutricional del organismo es el principal factor que regula el índice de lipogénesis. De esta manera, el índice es alto en el animal bien alimentado cuya dieta contiene una alta proporción de carbohidratos. Es deprimido por la ingestión calórica restringida, dieta con alto contenido de grasa, o una deficiencia de insulina, como en la diabetes mellitus; este tipo de condiciones muestran vínculo con aumento de las concentraciones de FFA en plasma, y se ha demostrado una relación inversa entre la lipogénesis hepática y la concentración de FFA en el suero. Cuando la alimentación consta de sacarosa en lugar de glucosa hay incremento de la lipogénesis, porque la fructosa evita el paso por el punto de control de fosfofructocinasa en la glucólisis, e inunda la vía lipogénica (figura 20-5).

MECANISMOS A PLAZOS CORTO Y LARGO REGULAN LA LIPOGÉNESIS

La síntesis de ácidos grasos de cadena larga está controlada a corto plazo mediante modificación alostérica y covalente de enzimas, y a largo plazo por cambios de la expresión de gen que rigen los índices de síntesis de enzimas.

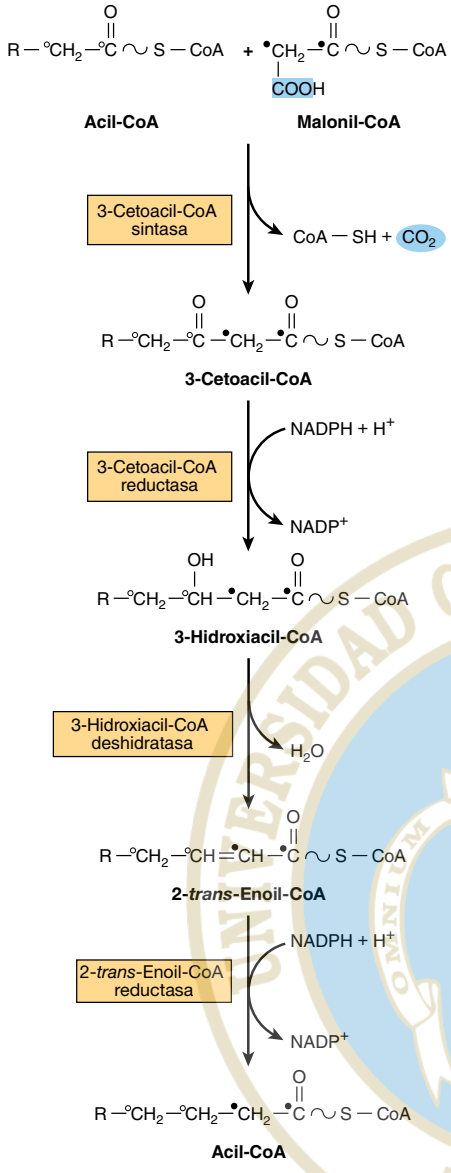


FIGURA 23-5 **Sistema de elongasa microsómico para la elongación de cadena de ácido graso.** Las reductasas también usan NADH, pero se prefiere NADPH.

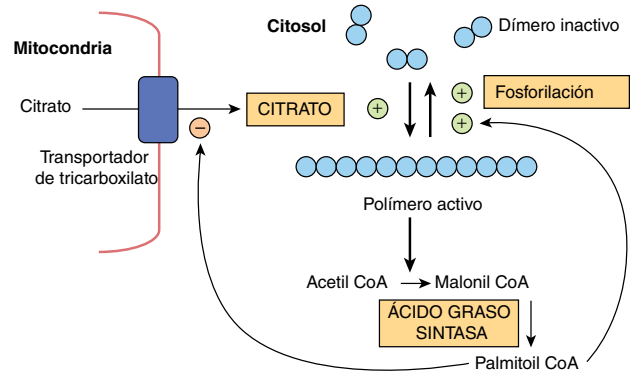


FIGURA 23-6 **Regulación de la acetil-CoA carboxilasa.** La acetil-CoA carboxilasa es activada por citrato, el cual promueve la conversión de la enzima de un dímero inactivo a una forma polimérica activa. La inactivación es promovida por fosforilación de la enzima y por moléculas de cadena larga acil-CoA como palmitoiil CoA. Además, la acil-CoA inhibe el transportador tricarboxilato, el cual transporta el citrato fuera de la mitocondria en el citosol, lo que hace decrecer la concentración de citrato en el citosol y favorece la inactivación de la enzima.

La acetil-CoA carboxilasa es la enzima de mayor importancia en la regulación de la lipogénesis

La acetil-CoA carboxilasa es una enzima alostérica y es activada por el **citrato**, cuya concentración aumenta en el estado bien alimentado, y es un indicador de un aporte suficiente de acetil-CoA. El citrato promueve la conversión de la enzima desde un dímero inactivo (dos subunidades de complejo enzimático) hacia una forma polimérica activa, con una masa molecular de varios millones. La desactivación es promovida por fosforilación de la enzima y por moléculas de acil-CoA de cadena larga, un ejemplo de inhibición por retroalimentación negativa por un producto de una reacción (**figura 23-6**). De este modo, si se acumula acil-CoA porque no se esterifica con suficiente rapidez, o debido a incremento de la lipólisis o a un flujo de FFA hacia adentro del tejido, reducirá de manera automática la síntesis de ácido graso nuevo. La acil-CoA también inhibe el **transportador de tricarboxilato** mitocondrial, lo que impide la activación de la enzima por egreso de citrato desde la mitocondria hacia el citosol (figura 23-6).

La acetil-CoA carboxilasa también está regulada por hormonas como **glucagón**, **epinefrina** e **insulina** por medio de cambios en su estado de fosforilación (véanse los detalles en la **figura 23-7**).

La piruvato deshidrogenasa también está regulada por la acil-CoA

La acil-CoA da por resultado inhibición de la piruvato deshidrogenasa al inhibir el transportador de intercambio de ATP-ADP de la membrana mitocondrial interna, lo que conduce a aumento de las proporciones (ATP)/(ADP) intramitocondriales y, en consecuencia, a conversión de piruvato deshidrogenasa activa en inactiva (figura 17-6), lo que regula la disponibilidad de acetil-CoA para lipogénesis. Más aún, la oxidación de acil-CoA debido a incremento de las concentraciones de FFA puede aumentar las proporciones de (acetil-CoA)/(CoA) y (NADH]/(NAD+) en las mitocondrias, lo que inhibe la piruvato deshidrogenasa.

La insulina también regula la lipogénesis mediante otros mecanismos

La **insulina** estimula la lipogénesis por medio de varios otros mecanismos, así como al incrementar la actividad de acetil-CoA carboxilasa. Aumenta el transporte de glucosa hacia la célula (p. ej., en el tejido adiposo), lo que incrementa la disponibilidad tanto de piruvato para la síntesis de ácidos grasos como de glicerol 3-fosfato para la síntesis de triacilglicerol vía esterificación de los ácidos grasos recién formados (figura 24-2), y convierte también la forma inactiva de la piruvato deshidrogenasa en la forma activa en el tejido adiposo, no así en el hígado. Asimismo, la insulina —mediante su capacidad para deprimir la concentración de cAMP intracelular— **inhibe la lipólisis** en el tejido adiposo y reduce la concentración de FFA y, por ende, de acil-CoA de cadena larga en el plasma, que son inhibidores de la lipogénesis.

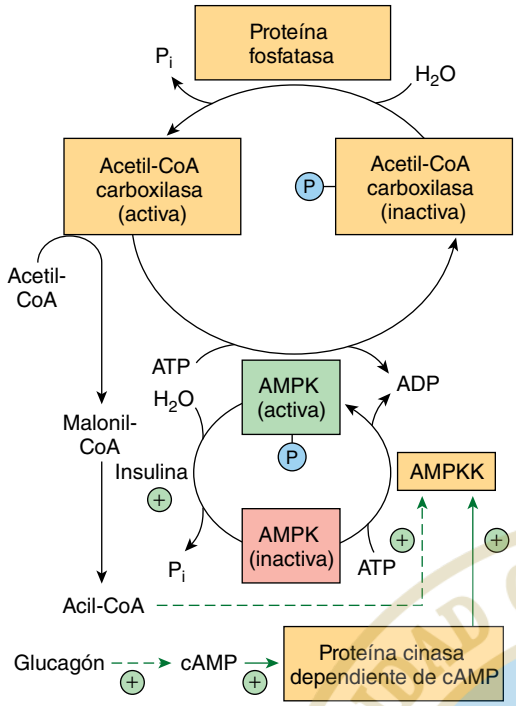


FIGURA 23-7 Regulación de la acetil-CoA carboxilasa por medio de fosforilación/desfosforilación. La enzima es desactivada por fosforilación por la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) que, a su vez, es fosforilada y activada por la proteína cinasa cinasa activada por AMP (AMPKK). El glucagón (y la epinefrina) incrementan el cAMP y, de este modo, activan esta última enzima mediante la proteína cinasa dependiente de cAMP. También se cree que la acil-CoA activa a la enzima cinasa cinasa. La insulina activa a la acetil-CoA carboxilasa por medio de desfosforilación de AMPK.

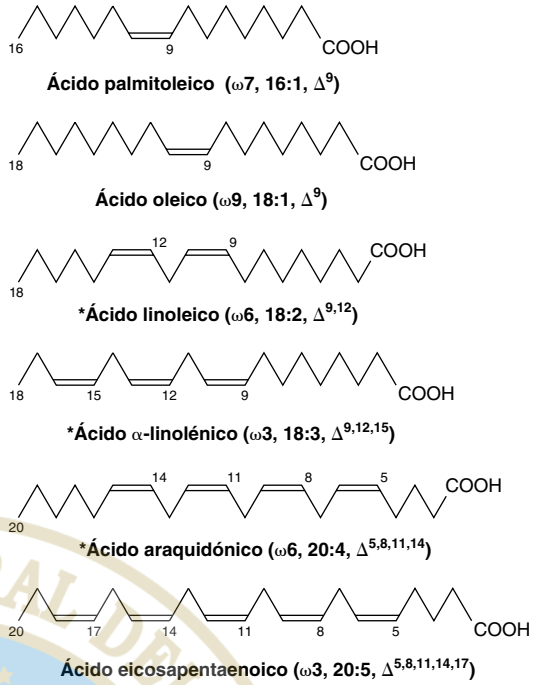


FIGURA 23-8 Estructura de algunos ácidos grasos insaturados. Si bien los átomos de carbono en las moléculas están numerados de manera convencional —desde el carboxilo terminal—, los números ω (p. ej., ω7 en el ácido palmitoleico) se calculan desde el extremo inverso (el metilo terminal) de las moléculas. La información entre paréntesis muestra, por ejemplo, que el ácido α-linolénico contiene dobles enlaces empezando en el tercer carbono desde el metilo terminal, tiene 18 carbonos y 3 dobles enlaces, y tiene estos dobles enlaces en los carbonos noveno, duodécimo y decimoquinto desde el carboxilo terminal. (*Clasificados como "ácidos grasos esenciales").

El complejo de ácido graso sintasa y acetil-CoA carboxilasa son enzimas adaptativas

Estas enzimas se adaptan a las necesidades fisiológicas del organismo por medio de cambios de la expresión de gen que llevan a incrementos de la cantidad total presente durante el estado posprandial, y disminuye durante la ingestión de una dieta alta en grasas y en condiciones como inanición, y diabetes mellitus. La **insulina** es una importante hormona que origina expresión de gen e inducción de biosíntesis de enzimas, en tanto que el **glucagón** (por medio del cAMP) antagoniza este efecto. La ingestión de grasas que contienen ácidos grasos poliinsaturados regula de modo coordinado la inhibición de la expresión de enzimas clave de la glucólisis y la lipogénesis. Estos mecanismos para la regulación a plazo más largo de la lipogénesis tardan varios días en manifestarse por completo, e incrementan el efecto directo e inmediato de los FFA y de hormonas como insulina y glucagón.

ALGUNOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS NO PUEDEN SINTETIZARSE EN MAMÍFEROS Y SON ESENCIALES DESDE EL PUNTO DE VISTA NUTRICIONAL

La **figura 23-8** muestra ciertos ácidos grasos insaturados de cadena larga de importancia metabólica en mamíferos. Otros ácidos grasos polienoicos C_{20}, C_{22} y C_{24} se derivan de los ácidos oleico, linoleico y α-linolénico mediante alargamiento de cadena. Los ácidos palmitoleico y oleico no son esenciales en la dieta porque los tejidos pueden introducir un doble enlace en la posición Δ^9 de un ácido graso saturado. Los **ácidos linoleico** y **α-linolénico** son los únicos ácidos grasos que se sabe que son esenciales para la nutrición completa de muchas especies de animales, incluso seres humanos, y se conocen como los **ácidos grasos esenciales en el aspecto nutricional.** En casi todos los mamíferos, el **ácido araquidónico** puede formarse a partir de ácido linoleico. Pueden introducirse dobles enlaces en las posiciones Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 (capítulo 21) en la mayoría de los animales, pero nunca más allá de la posición Δ^9. En contraste, los vegetales tienen la capacidad para sintetizar los ácidos grasos esenciales desde el punto de vista nutricional al introducir dobles enlaces en las posiciones Δ^{12} y Δ^{15}.

LOS ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS SE SINTETIZAN POR MEDIO DE UN SISTEMA DE Δ^9 DESATURASA

Varios tejidos, entre ellos el hígado, se encargan de la formación de ácidos grasos monoinsaturados no esenciales a partir de ácidos grasos saturados. En un ácido graso saturado el primer doble enlace casi siempre se introduce en la posición Δ^9. Un sistema de enzima —**Δ^9 desaturasa (figura 23-9)**— en el retículo

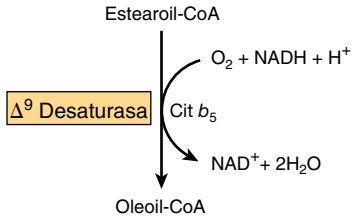


FIGURA 23-9 **Δ^9 Desaturasa microsómica.**

endoplásmico cataliza la conversión de palmitoil-CoA o estearoil-CoA en palmitoleoil-CoA u oleoil-CoA, respectivamente. Se necesitan oxígeno y NADH o NADPH para la reacción. Las enzimas parecen ser similares a un sistema de monooxigenasa que incluye el citocromo b_5 (capítulo 12).

LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS COMPRENDE SISTEMAS ENZIMÁTICOS DE DESATURASA Y ELONGASA

Los dobles enlaces adicionales introducidos en ácidos grasos monoinsaturados existentes siempre están separados uno de otro por un grupo metileno (interrumpidos por metileno) excepto en bacterias. Puesto que los animales tienen una Δ^9 desaturasa, son capaces de sintetizar la familia ω9 (ácido oleico) de ácidos grasos insaturados por completo mediante una combinación de alargamiento y desaturación de cadena (figuras 23-9 y **23-10**) después de la formación de ácidos grasos saturados mediante las vías descritas en este capítulo. Sin embargo, como se indicó, los ácidos linoleico (ω6) y α-linolénico (ω3) se requieren para la síntesis de otros miembros de las familias ω6 u ω3 (las vías se muestran en la figura 23-10, y deben ser suministrados en la dieta. El ácido linoleico es convertido en ácido araquidónico (20:4 ω6) por medio del **ácido γ-linolénico** (**18:3 ω6**). De este modo, se puede prescindir del requerimiento nutricional de araquidonato si hay linoleato adecuado en la dieta. Sin embargo, los gatos no pueden llevar a cabo esta conversión debido a la falta de Δ^6 desaturasa y deben obtener el araquidonato en su dieta. El sistema de desaturación y alargamiento de cadena está muy disminuido: en el estado de inanición, en respuesta a la administración de glucagón y epinefrina, y en ausencia de insulina, como en la diabetes mellitus tipo 1.

SE PRODUCEN SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA CUANDO HAY CARENCIA DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN LA DIETA

Las ratas alimentadas con una dieta sin lípidos purificada, que contiene vitaminas A y D, muestran índice de crecimiento reducido, y deficiencia reproductiva, que pueden curarse al añadir **ácidos linoleico, α-linolénico** y **araquidónico** a la dieta; dichos ácidos grasos se encuentran en concentraciones altas en aceites vegetales (cuadro 21-2) y en pequeñas cantidades en cadáveres de animales. Los ácidos grasos esenciales son indispensables para la formación de prostaglandina, tromboxano, leucotrieno y lipoxina (véase más adelante), y tienen varias otras funciones menos bien definidas. Se encuentran en los lípidos estructurales de la célula, a menudo en la posición 2 de fosfolípidos y están relacionados con la integridad estructural de la membrana mitocondrial.

El ácido araquidónico está presente en membranas y explica 5 a 15% de los ácidos grasos en fosfolípidos. El ácido docosahexaenoico (DHA; ω3, 22:6), que se sintetiza en un grado limitado a partir del ácido α-linolénico, o que se obtiene de manera directa a partir de aceites de pescado, está presente en concentraciones altas en la retina, la corteza cerebral, los testículos y el semen. El DHA es en particular necesario para el desarrollo del cerebro y la retina, y se proporciona mediante la placenta y la leche. Se informa que los pacientes con **retinitis pigmentosa** tienen concentraciones bajas de DHA. En la **deficiencia de ácidos grasos esenciales**, los ácidos polienoicos no esenciales de la familia ω9, en particular ácido $\Delta^{5,8,11}$-eicosatrienoico (ω9 20:3) (figura 23-10), reemplazan a los ácidos grasos esenciales en fosfolípidos, otros lípidos complejos, y membranas. Es posible emplear la proporción trieno:tetraeno en lípidos plasmáticos para diagnosticar la magnitud de la deficiencia de ácidos grasos esenciales.

LOS EICOSANOIDES SE FORMAN A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS C_{20}

El araquidonato y algunos otros ácidos grasos poliinsaturados C_{20} dan lugar a **eicosanoides**, compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica conocidos como **prostaglandinas (PG)**, **tromboxanos (TX)**, **leucotrienos (LT)** y **lipoxinas (LX)** (capítulo 21). Desde el punto de vista fisiológico, se considera que actúan como hormonas locales que funcionan por medio de receptores enlazados a proteína G para desencadenar sus efectos bioquímicos.

Hay tres grupos de eicosanoides que se sintetizan a partir de ácidos eicosanoicos C_{20} derivados de los ácidos grasos esenciales **linoleato** y **α-linolenato**, o de modo directo a partir del araquidonato y eicosapentaenoato de la dieta (**figura 23-11**). El araquidonato, que puede obtenerse a partir de la dieta, pero que por lo general se deriva de la posición 2 de fosfolípidos en la membrana plasmática mediante la acción de la fosfolipasa A_2 (figura 24-6), es el sustrato para la síntesis de PG_2, serie TX_2 **(prostanoides)** por medio de la **vía de la ciclooxigenasa**, o las series LT_4 y LX_4 mediante la **vía de la lipooxigenasa**; las dos vías compiten por el sustrato araquidonato (figura 23-11).

LA VÍA DE LA CICLOOXIGENASA (COX) SE ENCARGA DE LA SÍNTESIS DE PROSTANOIDES

La síntesis de prostanoides (**figura 23-12**) involucra el consumo de dos moléculas de O_2 catalizado por la COX (también llamada **prostaglandina H sintasa**), una enzima que tiene dos actividades, una **ciclooxigenasa** y **peroxidasa**. La COX está presente como dos isoenzimas, **COX-1** y **COX-2**. El producto, un endoperóxido (PGH), se convierte en prostaglandinas D y E, así como en un tromboxano (TXA_2) y prostaciclina (PGI_2). Cada tipo de célula sólo produce un tipo de prostanoide. El NSAID **ácido acetilsalicílico** inhibe a la COX-1 y COX-2; otros NSAID son

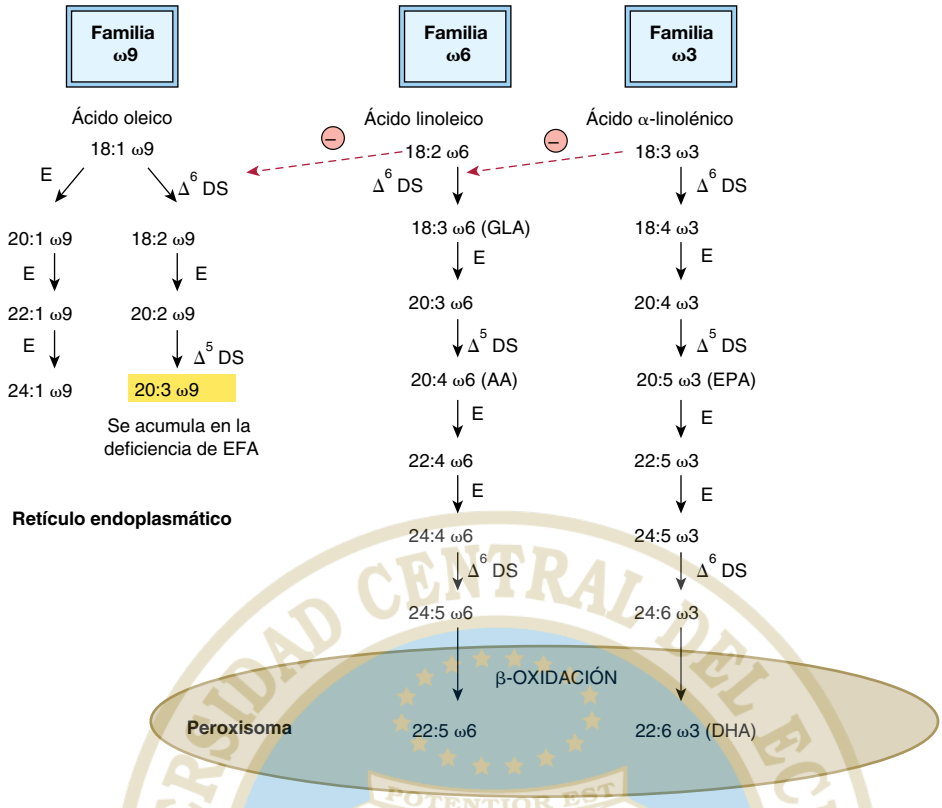


FIGURA 23-10 Biosíntesis de las familias ω9, ω6 y ω3 de ácidos grasos poliinsaturados. En animales, las familias ω9, ω6 y ω3 de ácidos grasos poliinsaturados se sintetizan en el retículo endoplasmático a partir de los ácidos oleico, linoleico y β-linolénico, respectivamente, por medio de una serie de reacciones de alargamiento y desaturación. Sin embargo, la producción de ácido 22:5 ω6 (ácido osbond) o 22:6 ω3 (ácido docosahexaenoico [DHA]), requiere un ciclo de β-oxidación que tiene lugar dentro de peroxisomas después de la formación de 24:5 ω6 o 24:6 ω3. AA, ácido araquidónico; E, elongasa; EFA, ácidos grasos esenciales; EPA, ácido eicosapentaenoico; GLA, ácido γ-linolénico; DS, desaturasa; ⊖, inhibición.

la **indometacina** y el **ibuprofeno**, y por lo regular inhiben COX al competir con el araquidonato. Dado que la inhibición de la COX-1 causa la irritación del estómago que a menudo muestra vínculo con la ingestión de NSAID, se ha intentado crear fármacos que inhiben de manera selectiva a la COX-2 (**coxibs**). Por desgracia el éxito de este método ha sido limitado y algunos coxibs se han retirado o suspendido del mercado debido a efectos secundarios indeseables y aspectos de seguridad. La transcripción de la COX-2 —no así de la COX-1— es inhibida por completo por los **corticosteroides antiinflamatorios**.

Los ácidos grasos esenciales no ejercen todos sus efectos fisiológicos por medio de la síntesis de PG

La función de los ácidos grasos esenciales en la formación de membrana no se relaciona con la formación de PG. Las PG no alivian síntomas de deficiencia de ácidos grasos esenciales y la inhibición de la síntesis de PG no suscita una deficiencia de ese tipo.

La COX es una "enzima suicida"

La "desactivación" de la actividad de PG se logra en parte mediante una propiedad notoria de la COX: la de destrucción autocatalizada; esto es, es una "**enzima suicida**". Más aún, la desactivación de PG por la **15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa** es rápida. El bloqueo de la acción de esta enzima con sulfasalazina o indometacina puede prolongar la vida media de las PG en el cuerpo.

LOS LEUCOTRIENOS Y LAS LIPOXINAS SE FORMAN POR MEDIO DE LA VÍA DE LA LIPOOXIGENASA

Los **leucotrienos** son una familia de trienos conjugados que se forman a partir de ácidos eicosanoicos en leucocitos, células de mastocitoma, plaquetas y macrófagos mediante la **vía de la lipooxigenasa** en respuesta a estímulos inmunitarios y no inmunitarios. Tres diferentes lipooxigenasas (dioxigenasas) insertan oxígeno en las posiciones 5, 12 y 15 del ácido araquidónico, lo que da lugar a hidroperóxidos (HPETE). Sólo la **5-lipooxigenasa** forma leucotrienos (véanse los detalles en la **figura 23-13**). Las **lipoxinas** son una familia de tetraenos conjugados que también surgen en leucocitos. Se forman por medio de la acción combinada de más de una lipooxigenasa (figura 23-13).

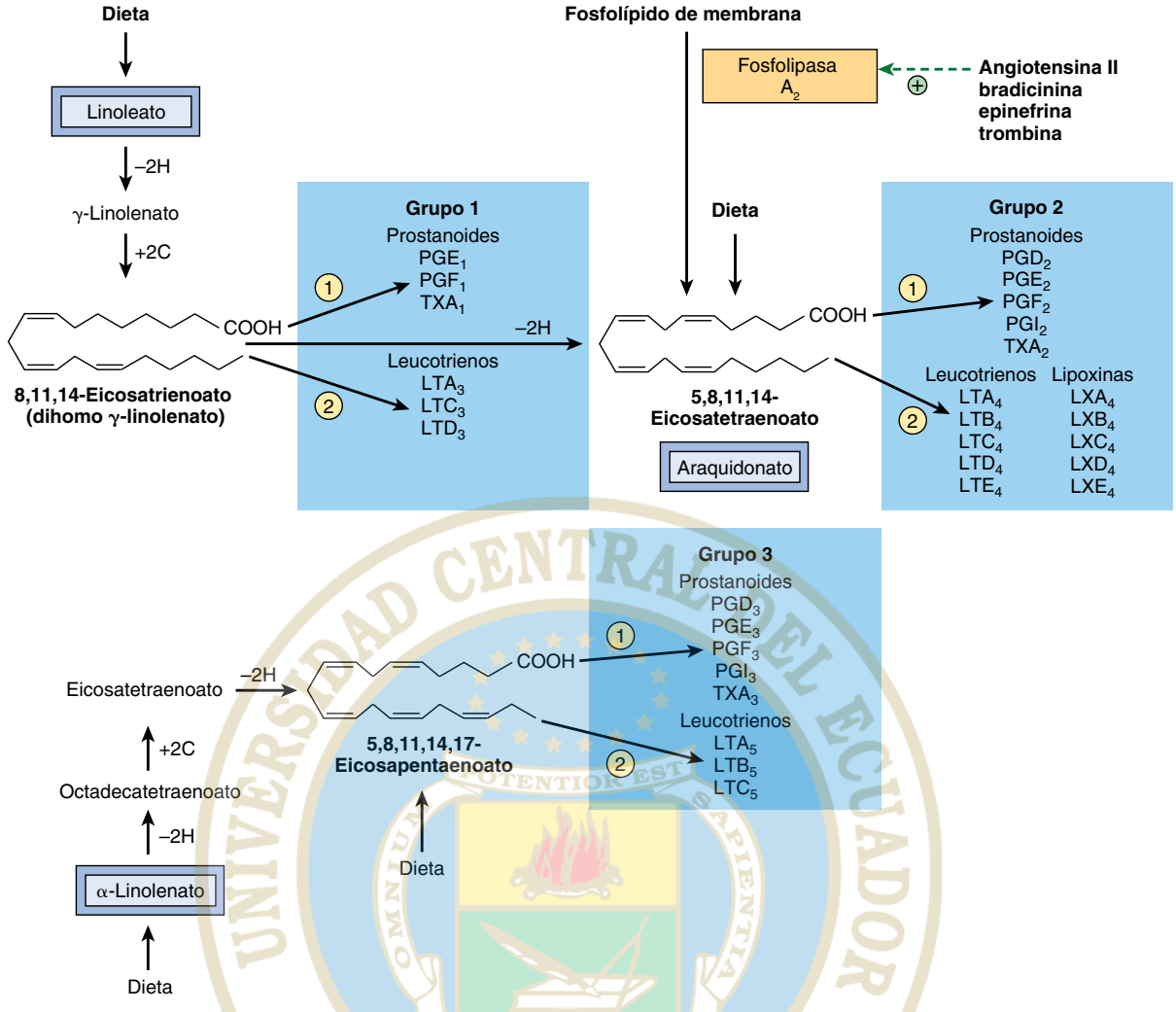


FIGURA 23-11 Los tres grupos de eicosanoides y sus orígenes biosintéticos. (PG, prostaglandina; PGI, prostaciclina; TX, tromboxano; LT, leucotrieno; LX, lipoxina; ①, vía de la ciclooxigenasa; ②, vía de la lipooxigenasa.) El número en subíndice denota el número total de dobles enlaces en la molécula y la serie a la cual pertenece el compuesto.

ASPECTOS CLÍNICOS

Los síntomas de deficiencia de ácidos grasos esenciales en humanos comprenden lesiones en la piel y deterioro del transporte de lípidos

En adultos que subsisten con dietas ordinarias, no se han informado signos de deficiencias de ácidos grasos esenciales. De cualquier modo, los lactantes que reciben dietas con leche artificial con bajo contenido de grasa, y los enfermos que se mantienen durante periodos prolongados de modo exclusivo mediante nutrición por vía intravenosa con bajo contenido de ácidos grasos esenciales muestran síntomas de deficiencia que pueden prevenirse por medio de una ingestión de ácidos grasos esenciales de 1 a 2% del requerimiento calórico total.

En varias enfermedades ocurre metabolismo anormal de ácidos grasos esenciales

El metabolismo anormal de los ácidos grasos esenciales, que puede estar vinculado con insuficiencia en la dieta, se ha notado en la fibrosis quística, la acrodermatitis enteropática, el síndrome hepatorrenal, síndrome de Sjögren-Larsson, degeneración neonatal de múltiples sistemas, enfermedad de Crohn, cirrosis y alcoholismo, y síndrome de Reye. Se han encontrado concentraciones altas de ácidos polienoicos de cadena muy larga en el cerebro de individuos con síndrome de Zellweger (capítulo 22). Las dietas con una proporción P:S (ácido graso poliinsaturado:saturado) alta reducen las concentraciones séricas de colesterol, y se considera que son beneficiosas en cuanto al riesgo de aparición de cardiopatía coronaria.

Los ácidos grasos trans están implicados en diversos trastornos

Pequeñas cantidades de ácidos grasos *trans*-insaturados se encuentran en la grasa de rumiante (p. ej., la grasa de mantequilla tiene 2 a 7%), donde surgen a partir de la acción de microorganismos en el rumen, pero la principal fuente en la dieta humana es a partir de aceites vegetales parcialmente hidrogenados (p. ej., margarina) (capítulo 21). Los ácidos grasos *trans* compiten con

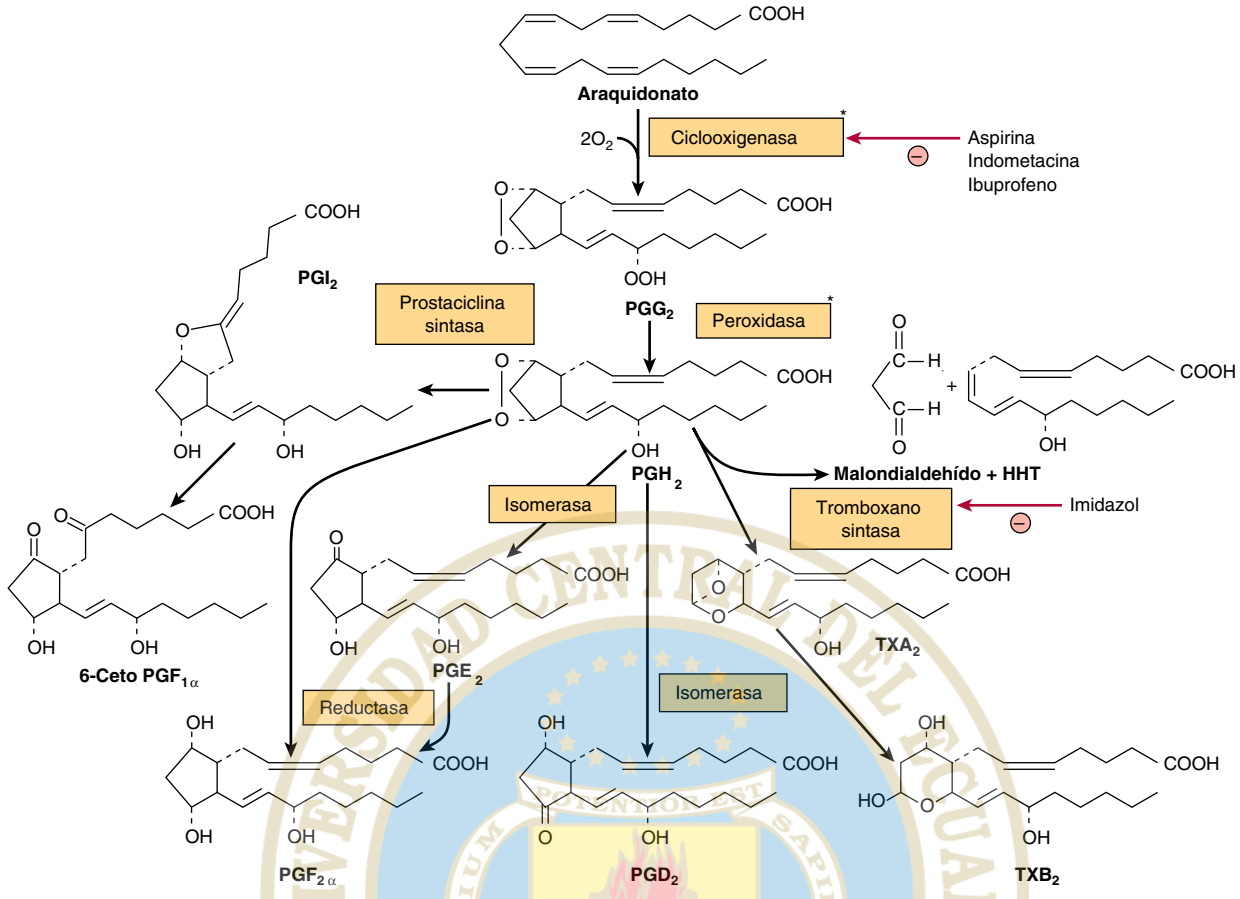


FIGURA 23-12 Conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos de la serie 2. (PG, prostaglandina; TX, tromboxano; PGI, prostaciclina; HHT, hidroxiheptadecatrienoato). (*Estas dos actividades marcadas con asterisco se atribuyen a la enzima ciclooxigenasa [prostaglandina H sintasa]. Suceden conversiones similares en las prostaglandinas y los tromboxanos de las series 1 y 3).

los ácidos grasos esenciales y pueden exacerbar deficiencia de ácido graso esencial. Más aún, son estructuralmente similares a los ácidos grasos saturados (capítulo 21) y tienen efectos comparables en la promoción de hipercolesterolemia y aterosclerosis (capítulo 26).

Los prostanoides son sustancias potentes que tienen actividad biológica

Los **tromboxanos** se sintetizan en plaquetas y en el momento de su liberación producen vasoconstricción y agregación plaquetaria. El ácido acetilsalicílico en dosis bajas inhibe su síntesis de manera específica. Las **prostaciclinas** (**PGI_2**) se producen en las paredes de los vasos sanguíneos y son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria. De este modo, los tromboxanos y las prostaciclinas son antagonistas. La PG_3 y el TX_3, que se forman a partir del ácido eicosapentaenoico (EPA), inhiben la liberación de araquidonato a partir de fosfolípidos, y la formación de PG_2 y TX_2. La PGI_3 es un antiagregador de plaquetas tan potente como la PGI_2, pero el TXA_3 es un agregador más débil que el TXA_2, lo que modifica el equilibrio de actividad y favorece tiempos de coagulación más prolongados. Una cantidad de PG plasmáticas tan pequeña como 1 ng/mL ocasiona contracción del músculo liso en animales. Los usos terapéuticos potenciales incluyen prevención de la concepción, inhibición del trabajo de parto al término, terminación del embarazo, prevención de úlceras gástricas o alivio de las mismas, y control de la inflamación y de la presión arterial, y alivio del asma y de la congestión nasal. Además, la PGD_2 es una potente sustancia que promueve el sueño. Las prostaglandinas aumentan el cAMP en las plaquetas, el tiroides, el cuerpo amarillo, hueso fetal, adenohipófisis y pulmones, pero lo reducen en las células de los túbulos renales y en el tejido adiposo (capítulo 25).

Los leucotrienos y las lipoxinas son potentes reguladores de muchos procesos morbosos

La sustancia de reacción lenta de anafilaxia **(SRS-A)** es una mezcla de leucotrienos C_4, D_4 y E_4, la cual es un potente constrictor de la musculatura de las vías respiratorias bronquiales. Todos ellos, junto con el **leucotrieno B_4**, también dan por resultado permeabilidad vascular y atracción y activación de leucocitos, y son reguladores importantes en muchas enfermedades que comprenden reacciones inflamatorias o de hipersensibilidad inmediata, como el asma. Los leucotrienos son vasoactivos, y se ha hallado 5-lipooxigenasa en las paredes arteriales. La evidencia apoya una función antiinflamatoria para las lipoxinas en la función vasoactiva e inmunorreguladora, por ejemplo, como compuestos contrarreguladores (**chalonas**) de la respuesta inmunitaria.

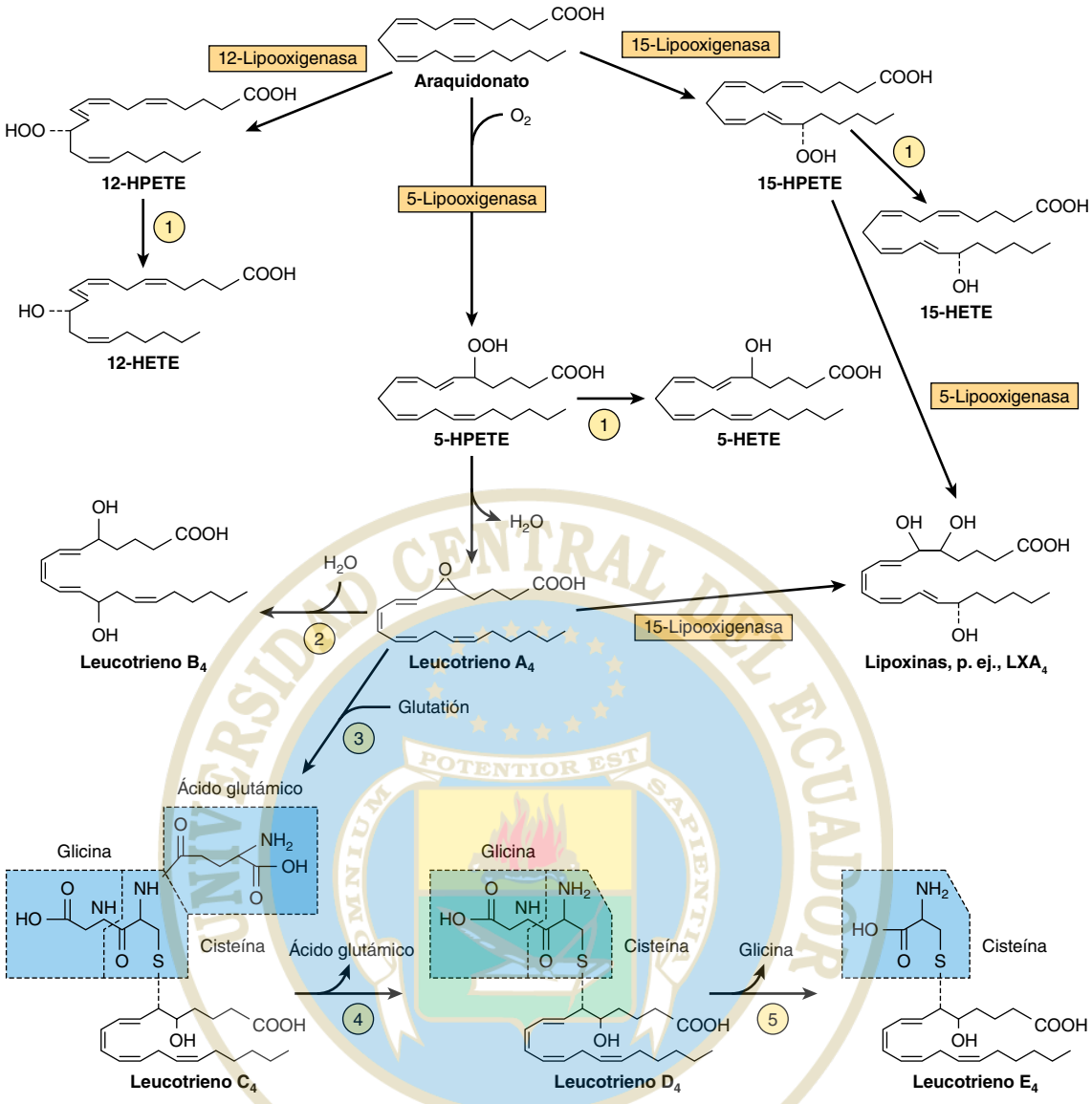


FIGURA 23-13 Conversión del ácido araquidónico en leucotrienos y lipoxinas de la serie 4 mediante la vía de la lipooxigenasa. Ocurren algunas conversiones similares en leucotrienos de las series 3 y 5. (HPETE, hidroperoxieicosatetraenoato; HETE, hidroxieicosatetraenoato; ①, peroxidasa; ②, leucotrieno A_4 epóxido hidrolasa; ③, glutatión S-transferasa; ④, γ-glutamiltranspeptidasa; ⑤, cisteinil-glicina dipeptidasa).

RESUMEN

- Dos sistemas de enzimas: acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintasa, llevan a cabo la síntesis de ácidos grasos de cadena larga (lipogénesis).
- La vía convierte a la acetil-CoA en palmitato y necesita NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina y ácido pantoténico como cofactores.
- La acetil-CoA carboxilasa convierte la acetil-CoA en malonil-CoA, y después en ácido graso sintasa, un complejo multienzimático que consta de dos cadenas polipeptídicas idénticas, cada una de las cuales contiene seis actividades enzimáticas separadas y ACP, cataliza la formación de palmitato a partir de una molécula de acetil-CoA y siete de malonil-CoA.
- La lipogénesis está regulada en el paso de la acetil-CoA carboxilasa mediante modificadores alostéricos, fosforilación/desfosforilación, e inducción y represión de la síntesis de enzima. La enzima es activada de manera alostérica por citrato y desactivada por la acil-CoA de cadena larga. La desfosforilación (p. ej., por medio de insulina) promueve su actividad, mientras que la fosforilación (p. ej., por glucagón o epinefrina) es inhibitoria.
- La biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga insaturados se logra mediante las enzimas desaturasa y elongasa, los cuales introducen dobles enlaces y alargan las cadenas acilo existentes, respectivamente.
- Los animales superiores tienen Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 desaturasas, pero no pueden insertar nuevos dobles enlaces más allá de la posición 9 de ácidos grasos. De este modo, es necesario que los ácidos grasos esenciales linoleico (ω6) y α-linolénico (ω3) se obtengan a partir de la dieta.
- Los eicosanoides se derivan de ácidos grasos C_{20} (eicosanoicos) sintetizados a partir de los ácidos grasos esenciales, y constituyen importantes grupos de compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica, entre ellos las prostaglandinas, los tromboxanos, los leucotrienos y las lipoxinas.

REFERENCIAS

Fitzpatrick FA: Cyclooxygenase enzymes: regulation and function. Curr Pharm Des 2004;10:577.

Lands B: Consequences of essential fatty acids. Nutrients 2012;4:1338.

McMahon B, Mitchell S, Brady HR, *et al*: Lipoxins: revelations on resolution. Trends Pharmacol Sci 2001;22:391.

Miyazaki M, Ntambi JM: Fatty acid desaturation and chain elongation in mammals. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;191–212.

Smith WL, Murphy RC: The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathways. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;331-362.

Smith S, Witkowski A, Joshi AK: Structural and functional organisation of the animal fatty acid synthase. Prog Lipid Res 2003;42:289.

Sul HS, Smith S: Fatty acid synthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;155-190.

Tong L: Acetyl-coenzyme A carboxylase: crucial metabolic enzyme and an attractive target for drug discovery. Cell Mol Life Sci 2005;62:1784.

Wijendran V, Hayes KC: Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. Annu Rev Nutr 2004;24:597.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 24

Metabolismo de acilgliceroles y esfingolípidos

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar que el catabolismo de los triacilgliceroles involucra hidrólisis por una lipasa hacia ácidos grasos libres y glicerol, e indicar el destino de estos metabolitos.
- Entender que el glicerol-3-fosfato es el sustrato para la formación tanto de triacilgliceroles como de fosfogliceroles, y que un punto de ramificación en el fosfatidato lleva a la síntesis de fosfolípidos de inositol y cardiolipina por medio de una rama, y triacilgliceroles y otros fosfolípidos por medio de la segunda rama.
- Explicar que los plasmalógenos y el factor activador de plaquetas (PAF) se forman mediante una vía compleja que inicia a partir de la dihidroxiacetona fosfato.
- Ilustrar el papel de diversas fosfolipasas en la degradación de fosfolípidos y el remodelado de los mismos.
- Apreciar que la ceramida se produce a partir del aminoácido serina y es el precursor a partir del cual se forman todos los esfingolípidos.
- Indicar de qué modo la esfingomielina y los glucoesfingolípidos se producen por la reacción de ceramida con fosfatidilcolina (con la liberación de diacilglicerol) o con residuo(s) de azúcar, respectivamente.
- Identificar ejemplos de procesos morbosos causados por defectos de la síntesis o la desintegración de fosfolípidos o esfingolípidos.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FUNDADA EN 1620
QUITO

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los acilgliceroles constituyen la mayor parte de los lípidos en el cuerpo. Los triacilgliceroles son los principales lípidos en depósitos de grasa y en los alimentos, y en capítulos subsiguientes se describirán sus participaciones en el transporte y almacenamiento de lípidos, y en diversas enfermedades como la obesidad, diabetes e hiperlipoproteinemia. La naturaleza anfipática de los fosfolípidos y esfingolípidos hace que sean ideales como el principal componente lípido de las membranas celulares.

Asimismo, los fosfolípidos participan en el metabolismo de muchos otros lípidos. Algunos fosfolípidos tienen funciones especializadas, por ejemplo, la dipalmitoil lecitina es un componente de importancia del **surfactante pulmonar**, que falta en el **síndrome de dificultad respiratoria** del recién nacido. Los fosfolípidos inositol en la membrana celular actúan como precursores de **segundos mensajeros hormonales**, y el **factor activador de plaquetas** es un alquilfosfolípido. Los glucoesfingolípidos, que contienen esfingosina y residuos azúcar, así como ácido graso, se encuentran en la hojuela externa de la membrana plasmática con sus cadenas de oligosacárido mirando hacia afuera, forman parte del glucocálix de la superficie celular, y son importantes: 1) en la adherencia y el reconocimiento celular, 2) como receptores para toxinas bacterianas (p. ej., la toxina que causa el cólera), y 3) como sustancias del grupo sanguíneo ABO. Se han descrito alrededor de una docena de **enfermedades por depósito de glucolípidos** (p. ej., enfermedad de Gaucher, enfermedad de Tay-Sachs), cada una de las cuales se debe a un defecto genético en la vía de la degradación de glucolípidos en los lisosomas.

LA HIDRÓLISIS INICIA EL CATABOLISMO DE LOS TRIACILGLICEROLES

Los triacilgliceroles deben hidrolizarse por medio de una **lipasa** hacia los ácidos grasos y el glicerol que los constituyen, antes de que pueda proceder más catabolismo. Gran parte de esta hidrólisis (lipólisis) ocurre en el tejido adiposo, con liberación de ácidos grasos libres hacia el plasma, donde se encuentran combinados con la albúmina sérica (figura 25-7). Esto va seguido por captación de FFA hacia los tejidos (entre ellos hígado, corazón, riñones, músculo, pulmones, testículos y tejido adiposo, aunque no de manera fácil por el cerebro), donde se oxidan para obtener energía o reesterificarse. La utilización de glicerol depende de si esos tejidos poseen la enzima **glicerol cinasa**, que se encuentra en cantidades importantes en hígado, riñones, intestino, tejido adiposo pardo y glándula mamaria en lactación.

LOS TRIACILGLICEROLES Y LOS FOSFOGLICEROLES SE FORMAN MEDIANTE ACILACIÓN DE TRIOSA FOSFATOS

La **figura 24-1** esboza las principales vías de la biosíntesis de triacilglicerol y fosfoglicerol. Las sustancias importantes, como los triacilgliceroles, la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol y la cardiolipina, un constituyente de las membranas mitocondriales, se forman a partir del **glicerol-3-fosfato**. Suceden puntos de ramificación importantes en la vía en los pasos de fosfatidato y diacilglicerol. A partir de dihidroxiacetona fosfato se derivan fosfogliceroles que contienen un enlace éter (—C—O—C—); los mejor conocidos entre ellos son los plasmalógenos y el factor activador de plaquetas (PAF). El glicerol 3-fosfato y el dihidroxiacetona fosfato son intermediarios en la glucólisis, y hacen una conexión muy importante entre el metabolismo de carbohidratos y de lípidos (capítulo 14).

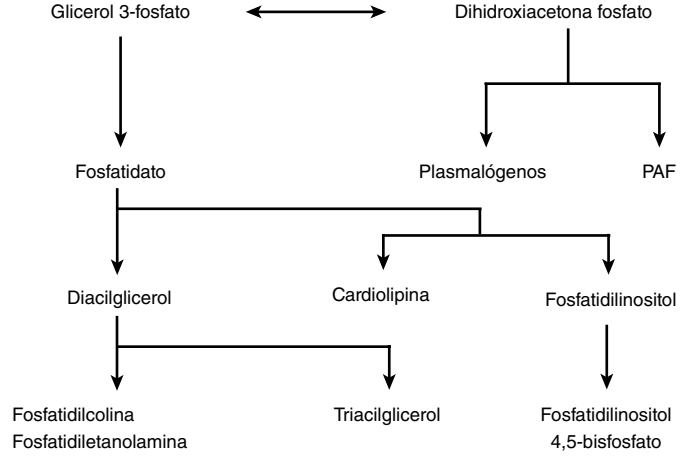


FIGURA 24-1 Perspectiva general de la biosíntesis de acilglicerol. (PAF, factor activador de plaquetas).

El fosfatidato es el precursor común en la biosíntesis de triacilgliceroles, muchos fosfogliceroles y cardiolipina

Antes de que tanto el glicerol como los ácidos grasos se puedan incorporar hacia acilgliceroles, es necesario que se activen por ATP. La **glicerol cinasa** cataliza la activación de glicerol hacia *sn*-glicerol 3-fosfato. Si la actividad de esta enzima falta o es baja, como en músculo o tejido adiposo, la mayor parte del glicerol 3-fosfato se forma a partir de dihidroxiacetona fosfato por medio de la **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa** (**figura 24-2**).

Biosíntesis de triacilgliceroles

Dos moléculas de acetil-CoA, formadas por la activación de ácidos grasos por la **acil-CoA sintetasa** (capítulo 22), se combinan con glicerol-3-fosfato para formar **fosfatidato** (1,2-diacilglicerol fosfato). Esto tiene lugar en dos etapas, catalizadas por la **glicerol-3-fosfato aciltransferasa** y la **1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa**. El fosfatidato es convertido por la fosfatidato fosfohidrolasa (también llamada fosfatidato fosfatasa [PAP]) y la diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) en 1,2-diacilglicerol, y después en triacilglicerol. Las **lipinas**, una familia de tres proteínas, tienen actividad de PAP y actúan también como factores de transcripción que regulan la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos. La DGAT cataliza el único paso específico para la síntesis de triacilglicerol y se cree que es limitante en casi todas las circunstancias. En la mucosa intestinal, la **monoacilglicerol aciltransferasa** convierte el **monoacilglicerol** en 1,2-diacilglicerol en la **vía del monoacilglicerol**. Casi toda la actividad de estas enzimas reside en el retículo endoplásmico, pero parte se encuentra en las mitocondrias. La fosfatidato fosfohidrolasa se encuentra sobre todo en el citosol, pero la forma activa de la enzima está unida a membrana.

Biosíntesis de fosfolípidos

En la biosíntesis de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina (figura 24-2), la colina o la etanolamina debe activarse primero mediante fosforilación por ATP seguida por enlace a difosfato de citidina (CDP). La CDP-colina o CDP-etanolamina resultante reacciona con 1,2-diacilglicerol para formar fosfatidilcolina o fosfatidiletanolamina, respectivamente. La **fosfatidilserina** se forma a partir de la fosfatidiletanolamina de modo directo por medio de reacción con serina (figura 24-2). La fosfatidilserina puede volver a formar fosfatidiletanolamina mediante descarboxilación. Una vía alternativa en el hígado permite que la fosfatidiletanolamina dé lugar de manera directa a fosfatidilcolina por medio de metilación progresiva del residuo etanolamina. A pesar de estas fuentes de colina, se considera que es un nutriente esencial en muchas especies de mamíferos, aunque esta certeza no se ha establecido en humanos.

La disponibilidad de FFA impulsa la regulación de la biosíntesis de triacilglicerol, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina. Los FFA que escapan a la oxidación se convierten de preferencia en fosfolípidos y cuando este requerimiento se satisface se usan para la síntesis de triacilglicerol.

Un fosfolípido presente en las mitocondrias es la **cardiolipina** (difosfatidilglicerol; figura 21-10), la cual se forma a partir

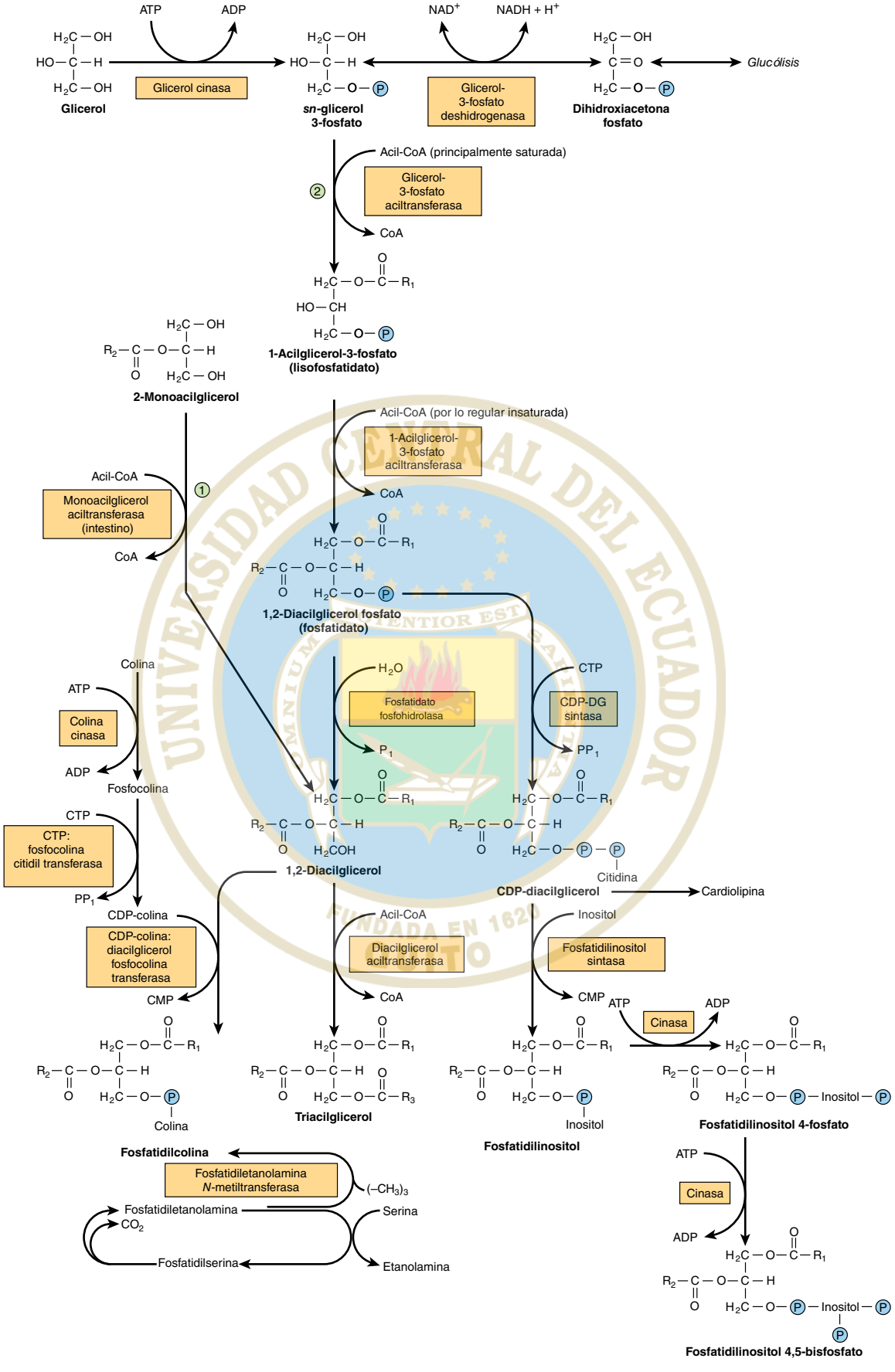


FIGURA 24-2 **Biosíntesis de triacilglicerol y fosfolípidos.** (①, vía del monoacilglicerol; (②, vía del glicerol fosfato). La fosfatidiletanolamina puede formarse a partir de etanolamina mediante una vía similar a la que se muestra para la formación de fosfatidilcolina a partir de colina.

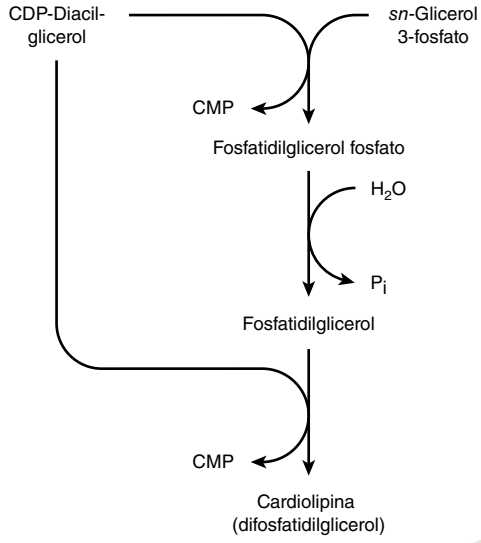


FIGURA 24-3 **Biosíntesis de cardiolipina.**

del fosfatidilglicerol que, a su vez, se sintetiza a partir del CDP-diacilglicerol (figura 24-2) y glicerol 3-fosfato de acuerdo con el esquema que se muestra en la **figura 24-3**. La cardiolipina, que se encuentra en la membrana interna de las mitocondrias, tiene una participación clave en la estructura y función mitocondriales, y se cree también que participa en la muerte celular programada (**apoptosis**).

Biosíntesis de glicerol éter fosfolípidos

En los **glicerol éter fosfolípidos,** uno o más de los carbonos del glicerol está fijo a una cadena de hidrocarburo mediante un enlace éter en lugar de un enlace éster. Los **plasmalógenos** y el **factor activador de plaquetas** son ejemplos importantes de este tipo de lípido. La vía biosintética se encuentra en los peroxisomas. El fosfato de dihidroxiacetona es el precursor de la porción glicerol (**figura 24-4**). Este compuesto se combina con acil-CoA para dar 1-acildihidroxiacetona fosfato y el enlace éter se forma en la reacción siguiente, y origina 1-alquildihidroxiacetona fosfato, que luego

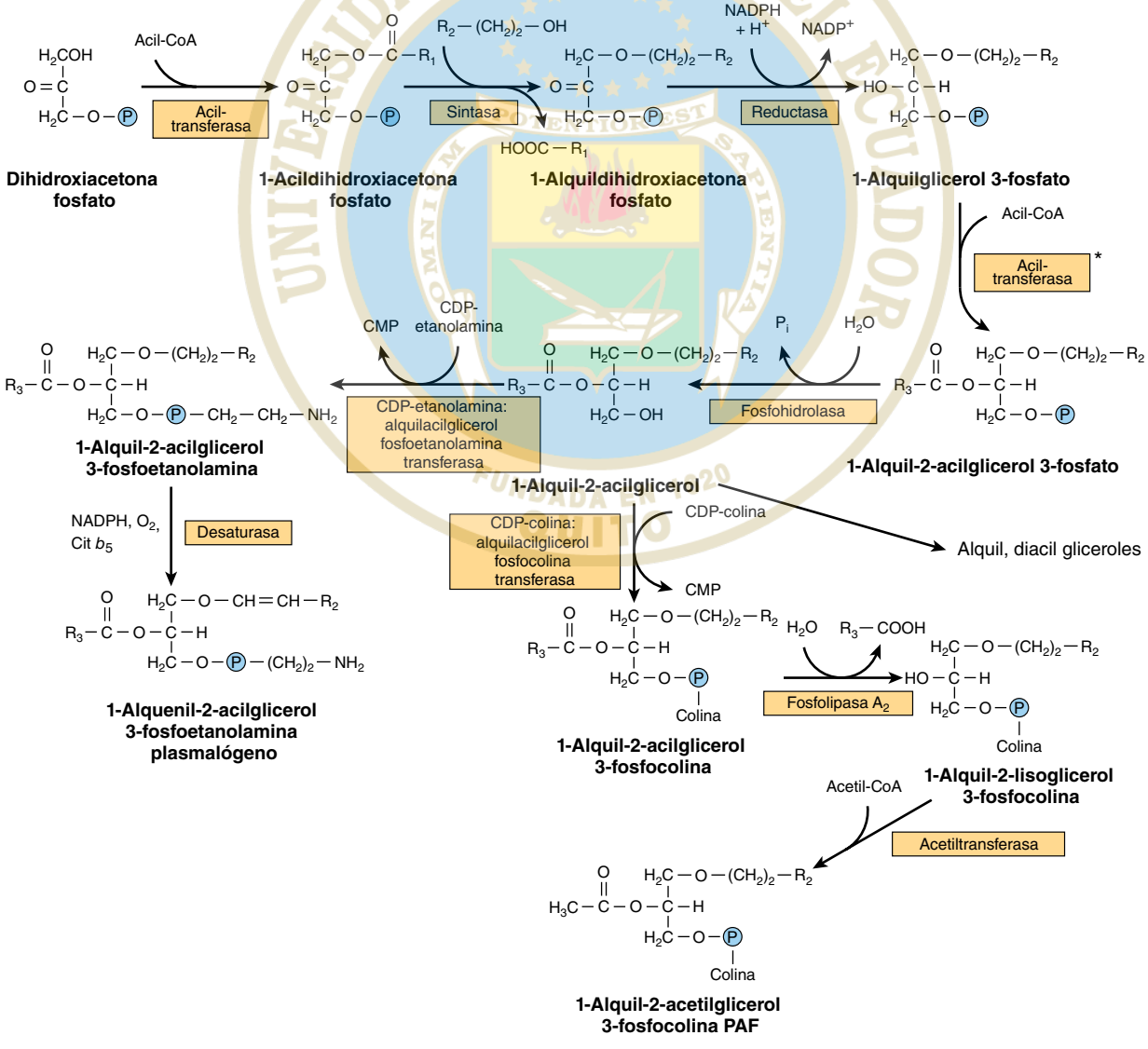


FIGURA 24-4 **Biosíntesis de lípidos éter, incluso plasmalógenos y PAF.** En la vía *de novo* para la síntesis de PAF, la acetil-CoA se incorpora en la etapa*, lo que evita los dos últimos pasos en la vía mostrada aquí.

se convierte en 1-alquilglicerol 3-fosfato. Después de acilación adicional en la posición 2, el 1-alquil-2-acilglicerol 3-fosfato (análogo al fosfatidato en la figura 24-2) resultante se hidroliza para dar el derivado glicerol libre. Los plasmalógenos, que comprenden gran parte de los fosfolípidos en las mitocondrias, se forman por desaturación del derivado 3-fosfoetanolamina análogo (figura 24-4). El factor activador de plaquetas (PAF) (1-alquil-2-acetil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina) se sintetiza a partir del derivado 3-fosfocolina correspondiente. Se forma en muchas células sanguíneas y en otros tejidos, y agrega plaquetas a concentraciones de apenas 10^{-11} mol/L. También tiene propiedades hipotensivas y ulcerogénicas, y participa en diversas respuestas biológicas, entre ellas inflamación, quimiotaxis y fosforilación de proteína.

La fosfolipasa permite la degradación y el remodelado de fosfogliceroles

Aun cuando los fosfolípidos se degradan de modo activo, cada porción de la molécula muestra recambio a un índice diferente; por ejemplo, el tiempo de recambio del grupo fosfato es diferente del tiempo de recambio del grupo 1-acilo. Esto se debe a la presencia de enzimas que permiten degradación parcial seguida por resíntesis (**figura 24-5**). La **fosfolipasa A_2** cataliza la hidrólisis de glicerofosfolípidos para formar un FFA y lisofosfolípido que, a su vez, se puede volver a acilar por la acil-CoA en presencia de una aciltransferasa. De manera alternativa, el lisofosfolípido (p. ej., lisolecitina) es atacado por la **lisofosfolipasa**, lo que forma la base glicerilo fosforilo correspondiente, que entonces puede ser dividida por una hidrolasa, lo que libera glicerol 3-fosfato más base. Las **fosfolipasas A_1**, **A_2**, **B**, **C** y **D** atacan los enlaces indicados en la **figura 24-6**. La **fosfolipasa A_2** se encuentra en el líquido pancreático y en el veneno de serpiente, así como en muchos tipos de células; la **fosfolipasa C** es una de las principales toxinas secretadas por bacterias, y se sabe que la **fosfolipasa D** participa en la transducción de señal en mamíferos.

La **lisolecitina (lisofosfatidilcolina)** puede formarse mediante una ruta alternativa que involucra la **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)**. Esta enzima, que se encuentra en el plasma, cataliza la transferencia de un residuo ácido graso desde la posición 2 de la lecitina hacia el colesterol para formar colesteril éster y lisolecitina, y se considera que es la causa de gran parte del colesteril éster en las lipoproteínas plasmáticas (capítulo 25).

Los ácidos grasos saturados de cadena larga se encuentran de modo predominante en la posición 1 de fosfolípidos, mientras que los ácidos poliinsaturados (p. ej., los precursores de PG) se incorporan con mayor frecuencia hacia la posición 2. La incorporación de ácidos grasos hacia lecitina ocurre de tres maneras: por medio de síntesis completa del fosfolípido, mediante transacilación entre colesteril éster y lisolecitina, y por medio de acilación directa de la lisolecitina por la acil-CoA. Así, es posible un intercambio continuo de los ácidos grasos, sobre todo en lo que se refiere a introducir EFA en moléculas de fosfolípido.

Todos los esfingolípidos se forman a partir de ceramida

La **ceramida** (capítulo 21) se sintetiza en el retículo endoplásmico a partir del aminoácido serina, como se muestra en la **figura 24-7**. La ceramida es una importante molécula emisora de señales

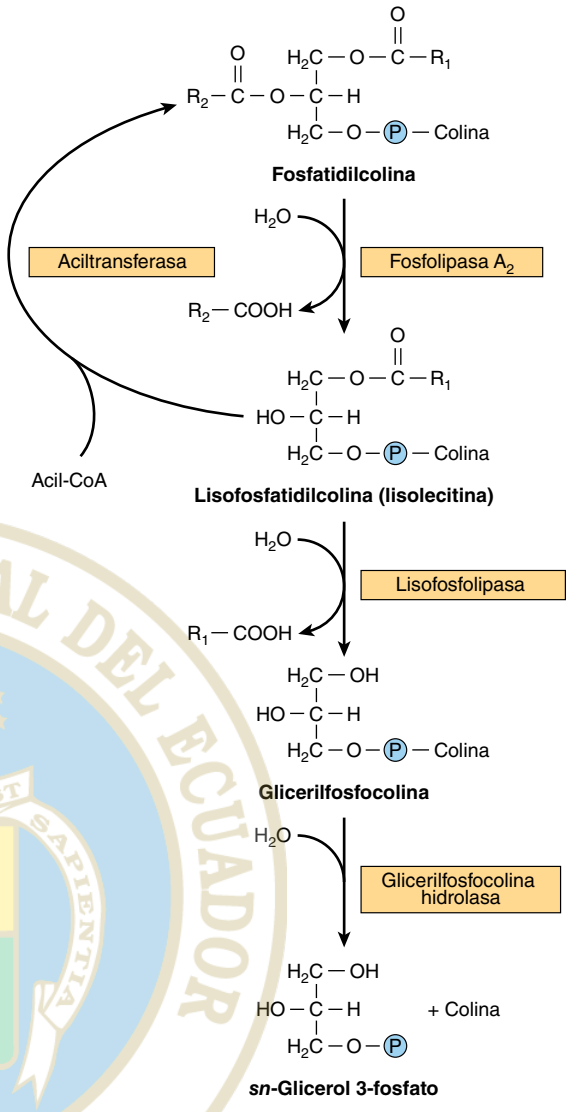


FIGURA 24-5 **Metabolismo de la fosfatidilcolina (lecitina).**

(segundo mensajero) que regula vías, incluso la muerte celular programada **(apoptosis)**, el **ciclo celular**, y la **diferenciación y senescencia celulares**.

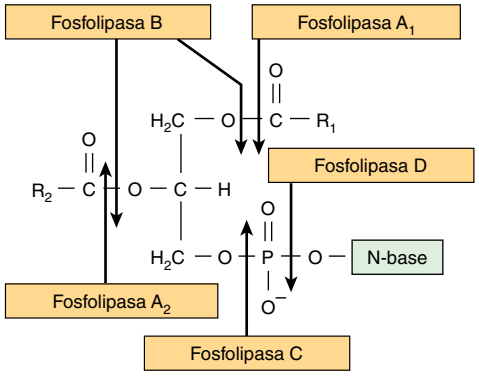


FIGURA 24-6 **Sitios de actividad hidrolítica de fosfolipasas sobre un sustrato fosfolípido.**

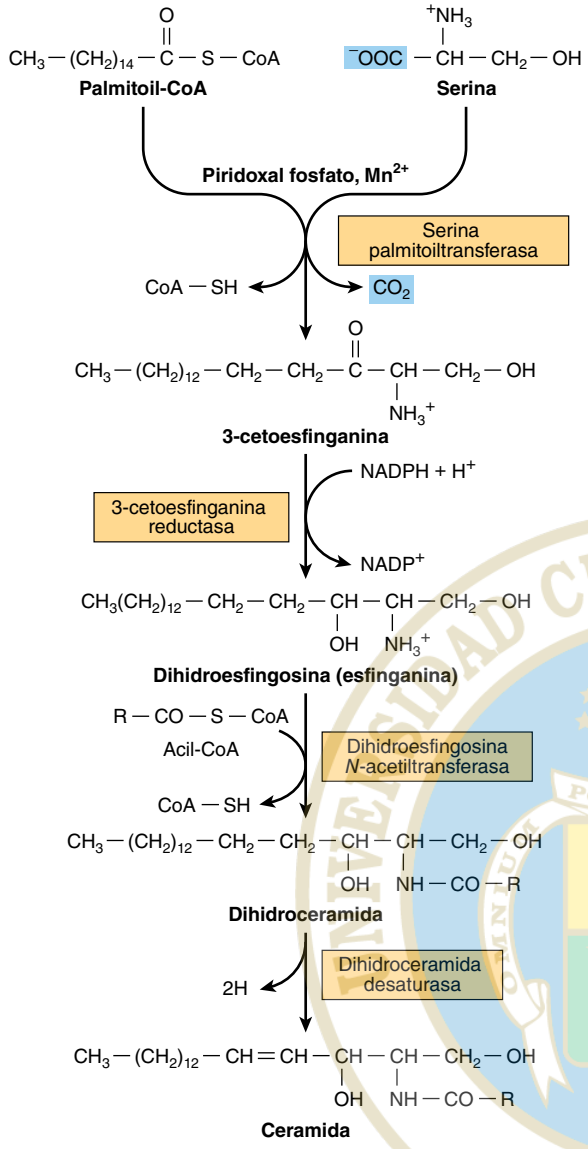


FIGURA 24-7 Biosíntesis de ceramida.

Las **esfingomielinas** (figura 21-11) son fosfolípidos y se forman cuando la ceramida reacciona con fosfatidilcolina para formar esfingomielina más diacilglicerol (**figura 24-8A**). Esto sucede sobre todo en el aparato de Golgi y en menor grado en la membrana plasmática.

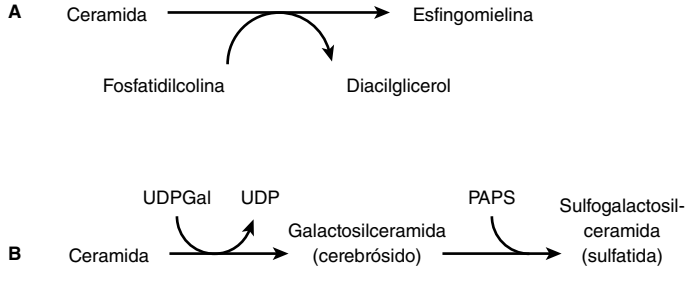


FIGURA 24-8 Biosíntesis de (A) esfingomielina, (B) galactosilceramida y su derivado sulfo. (PAPS, "sulfato activo", adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato).

Los glucoesfingolípidos son una combinación de ceramida con uno o más residuos azúcar

Los glucoesfingolípidos **(cerebrósidos)** más simples son la **galactosilceramida (GalCer)** y la **glucosilceramida (GlcCer)** (figura 21-15). La GalCer es un lípido importante de la **mielina**, mientras que la GlcCer es el principal glucoesfingolípido de los **tejidos extraneurales** y un precursor de casi todos los glucoesfingolípidos más complejos. La GalCer (**figura 24-8B**) se forma en una reacción entre ceramida y UDPGal (formada por epimerización a partir de UDPGlc, figura 20-6).

La **sulfogalactosilceramida** y otros sulfolípidos como los **sulfo(galacto)-glicerolípidos**, y los **esteroide sulfatos** se forman luego de reacciones adicionales que comprenden 3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS; "sulfato activo"). Los **gangliósidos** se sintetizan a partir de la ceramida mediante la adición por pasos de azúcares activados (p. ej., UDPGlc y UDPGal) y un **ácido siálico**, por lo general ácido *N*-acetilneuramínico (**figura 24-9**). Puede formarse un gran número de gangliósidos de peso molecular creciente. Casi todas las enzimas que transfieren a azúcares desde azúcares nucleótido (glucosil transferasas) se encuentran en el aparato de Golgi.

Los **glucoesfingolípidos** son constituyentes de la hojuela externa de las membranas plasmáticas, y tienen importancia en la **adherencia celular** y el **reconocimiento celular**. Algunos son antígenos, por ejemplo, sustancias del grupo sanguíneo ABO. Ciertos gangliósidos funcionan como receptores para toxinas bacterianas (p. ej., para la **toxina del cólera**, que después activa a la adenilil ciclasa).

ASPECTOS CLÍNICOS

La deficiencia de surfactante pulmonar suscita síndrome de dificultad respiratoria

El **surfactante pulmonar** está compuesto en gran medida de lípido con algunas proteínas y carbohidratos, y evita que los alvéolos se colapsen. El fosfolípido **dipalmitoil-fosfatidilcolina** disminuye la tensión de superficie en la interfaz aire-líquido y, de esta manera, reduce mucho el trabajo de la respiración, pero otros componentes lípidos y proteínicos surfactantes también tienen importancia en la función surfactante. La deficiencia de surfactante pulmonar en muchos recién nacidos pretérmino da lugar al **síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido**. La administración de surfactante natural o artificial genera beneficio terapéutico.

Los fosfolípidos y esfingolípidos participan en la esclerosis múltiple y en las lipidosis

Ciertas enfermedades se caracterizan por cantidades anormales de estos lípidos en los tejidos, a menudo en el sistema nervioso. Es factible clasificarlas en dos grupos: 1) enfermedades desmielinizantes verdaderas y 2) esfingolipidosis.

En la **esclerosis múltiple**, que es una enfermedad desmielinizante, hay pérdida tanto de fosfolípidos (en particular plasmaló-

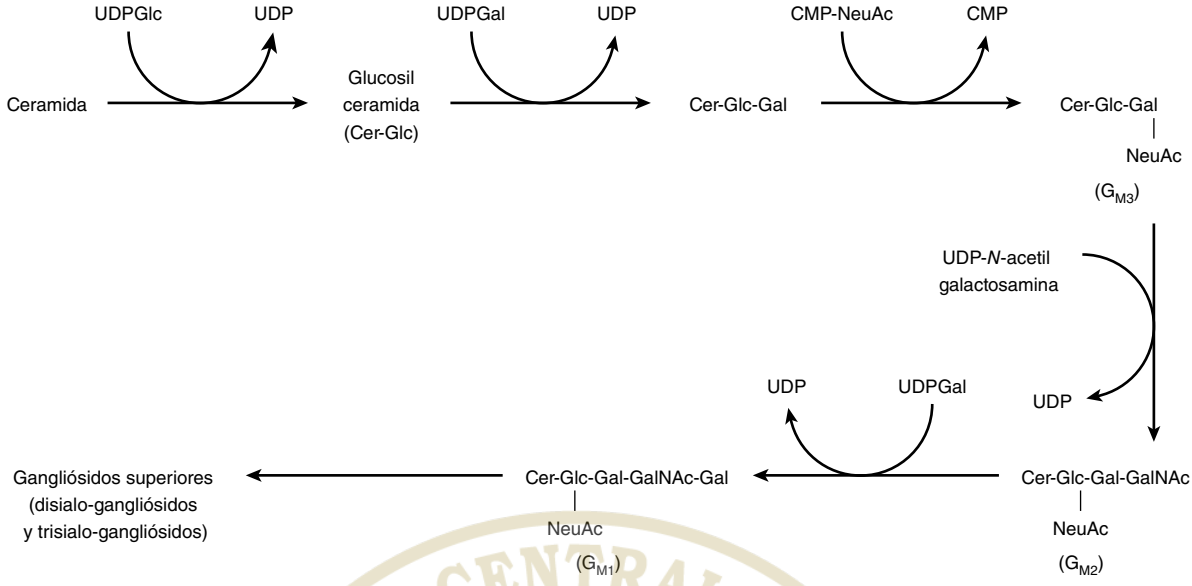


FIGURA 24-9 Biosíntesis de gangliósidos. (NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico).

geno etanolamina) como de esfingolípidos de la sustancia blanca. De este modo, la composición de lípido de la sustancia blanca semeja la de la sustancia gris. El líquido cefalorraquídeo muestra cifras aumentadas de fosfolípido.

Las **esfingolipidosis (enfermedades por depósito de lípido)** son un grupo de enfermedades hereditarias que se producen por un defecto genético del catabolismo de lípidos que contienen esfingosina. Forman parte de un grupo de mayor tamaño de trastornos lisosómicos y muestran varias características constantes: 1) lípidos complejos que contienen ceramida se acumulan en las células, particularmente en las neuronas, y ocasionan neurodegeneración y acortamiento del lapso de vida. 2) El índice de **síntesis** del lípido almacenado es normal. 3) El defecto enzimático yace en **la vía de degradación lisosómica** de esfingolípidos. 4) La magnitud del decremento de la actividad de la enzima afectada es similar en todos los tejidos. No se dispone de tratamiento eficaz para muchas de las enfermedades, si bien se ha logrado cierto éxito con la **terapia de restitución de enzima** y el **trasplante de médula ósea** en el tratamiento de las enfermedades de Gaucher y de Fabry. Otros métodos promisorios son la **terapia de privación de sustrato** para inhibir la síntesis de esfingolípidos, y la **terapia con chaperón químico.** También se encuentra en investigación la **terapia génica** para trastornos lisosómicos. El **cuadro 24-1** muestra algunos ejemplos de las más importantes enfermedades por depósito de lípido.

La **deficiencia múltiple de sulfatasa** da por resultado acumulación de sulfogalactosilceramida, esteroide sulfatos y proteoglucanos, debido a una deficiencia combinada de arilsulfatasas A, B y C, y esteroide sulfatasa.

CUADRO 24-1 Ejemplos de esfingolipidosis

Enfermedad	Deficiencia de enzima	Lípido que se acumula	Síntomas clínicos
Enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	Cer—Glc—Gal(NeuAc)-┼-GalNAc G_{M2} Ganglióside	Retraso mental, ceguera, debilidad muscular
Enfermedad de Fabry	α-Galactosidasa	Cer—Glc—Gal—┼-Gal Globotriaosilceramida	Exantema cutáneo, insuficiencia renal (los síntomas completos sólo se observan en varones; recesiva ligada a X)
Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatasa A	Cer—Gal—┼-OSO_3 3-Sulfogalactosilceramida	Retraso mental y alteraciones psicológicas en adultos; desmielinización
Enfermedad de Krabbe	β-Galactosidasa	Cer—┼-Gal Galactosilceramida	Retraso mental; casi no hay mielina
Enfermedad de Gaucher	β-Glucosidasa	Cer—┼-Glc Glucosilceramida	Agrandamiento de hígado y bazo, erosión de huesos largos, retraso mental en lactantes
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa	Cer—┼-P—colina Esfingomielina	Hígado y bazo agrandados, retraso mental; mortal en etapas tempranas de la vida
Enfermedad de Farber	Ceramidasa	Acil—┼-Esfingosina Ceramida	Ronquera, dermatitis, deformación del esqueleto, retraso mental; mortal en etapas tempranas de la vida

Abreviaturas: NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico; Cer, ceramida; Glc, glucosa; Gal, galactosa, ┼, sitio de reacción enzimática deficiente.

RESUMEN

- Los triacilgliceroles son los principales lípidos de almacenamiento de energía, mientras que los fosfogliceroles, la esfingomielina y los glucoesfingolípidos son anfipáticos y tienen funciones estructurales en membranas celulares, así como otras funciones especializadas.
- Los triacilgliceroles y algunos fosfogliceroles se sintetizan por medio de acilación progresiva de glicerol 3-fosfato. La vía se bifurca en el fosfatidato, y forma inositol fosfolípidos y cardiolipina por una parte, y triacilglicerol y fosfolípidos colina y etanolamina por la otra.
- Los plasmalógenos y el PAF son éter fosfolípidos formados a partir de la dihidroxiacetona fosfato.
- Los esfingolípidos se forman a partir de ceramida (*N*-acilesfingosina). La esfingomielina está presente en membranas de organelos involucrados en procesos secretorios (p. ej., el aparato de Golgi). Los glucoesfingolípidos más simples son una combinación de ceramida más un residuo azúcar (p. ej., GalCer en la mielina). Los gangliósidos son glucoesfingolípidos más complejos que contienen más residuos azúcar más ácido siálico. Están presentes en la capa externa de la membrana plasmática, donde contribuyen al glucocálix, y tienen importancia como antígenos y receptores celulares.
- Los fosfolípidos y esfingolípidos están implicados en varios procesos morbosos, entre ellos síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido (falta de surfactante pulmonar), esclerosis múltiple (desmielinización) y esfingolipidosis (incapacidad para desintegrar esfingolípidos en lisosomas debido a defectos hereditarios de enzimas hidrolasa).

REFERENCIAS

Goss V, Hunt AN, Postle AD: Regulation of lung surfactant phospholipid synthesis and metabolism. Biochim Biophys Acta 2013;1831:448.

McPhail LC: Glycerolipid in signal transduction. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 4th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2002:315-340.

Merrill AH: Sphingolipids. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008:363-398.

Reue K, Brindley DN: Thematic review series: glycerolipids. Multiple roles for lipins/phosphatidate phosphatase enzymes in lipid metabolism. J Lipid Res 2008;49:2493

Ruvolo PP: Intracellular signal transduction pathways activated by ceramide and its metabolites. Pharmacol Res 2003;47:383.

Shimizu T: Lipid mediators in health and disease: enzymes and receptors as therapeutic targets for the regulation of immunity and inflammation. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2009;49:123.

Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Vance DE, Vance JE (editors): Phospholipid biosynthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Elsevier, 2008:213-244.

Yen CL, Stone SJ, Koliwad S, *et al*: Thematic review series: glycerolipids. DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis. J Lipid Res 2008;49:2283.

Yu RK, Tsai YT, Ariga T, *et al*: Structures, biosynthesis and functions of gangliosides- an overview. J Oleo Sci 2011;60:537.

CAPÍTULO 25

Transporte y almacenamiento de lípidos

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Identificar los cuatro grupos principales de lipoproteínas plasmáticas y las cuatro clases principales de lípidos que portan.
- Ilustrar la estructura de una partícula de lipoproteína.
- Indicar los principales tipos de apolipoproteína que se encuentran en las diferentes clases de lipoproteína.
- Explicar que el triacilglicerol es transportado desde el intestino (después de ingestión en la dieta) al hígado en quilomicrones, y desde el hígado hacia tejidos extrahepáticos en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y estas partículas son sintetizadas en células intestinales y hepáticas, respectivamente, por medio de procesos similares.
- Ilustrar los procesos mediante los cuales los quilomicrones son metabolizados por lipasas para formar remanentes de quilomicrones, que a continuación son eliminados de la circulación por el hígado.
- Explicar cómo la VLDL es metabolizada por lipasas hacia remanentes de VLDL (también llamados lipoproteína de densidad intermedia [IDL]), que pueden ser depurados por el hígado o convertidos en lipoproteína de baja densidad (LDL), que funciona para suministrar colesterol desde el hígado a tejidos extrahepáticos, y es captada por el receptor de LDL (apoB100,E).
- Explicar cómo se sintetiza la lipoproteína de alta densidad (HDL), que devuelve colesterol desde tejidos extrahepáticos hacia el hígado en transporte inverso de colesterol, indicar los mecanismos por medio de los cuales acepta colesterol desde tejidos, y mostrar cómo se metaboliza en el ciclo de la HDL.
- Entender cómo el hígado desempeña una función fundamental en el transporte de lípidos y el metabolismo de los mismos, y cómo la dieta y hormonas regulan la secreción hepática de VLDL.
- Reconocer las funciones de la LDL y la HDL en la promoción y el retraso, respectivamente, de la aparición de aterosclerosis.
- Indicar las causas de la enfermedad de hígado graso alcohólica y no alcohólica.
- Identificar que el tejido adiposo es el principal almacén de triacilglicerol en el organismo, y explicar los procesos mediante los cuales se liberan ácidos grasos, y cómo están regulados.
- Entender la función del tejido adiposo pardo en la generación de calor corporal.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La grasa que se absorbe a partir de la dieta, y los lípidos sintetizados por el hígado y el tejido adiposo deben transportarse entre los diversos tejidos y órganos para utilización y almacenamiento. Dado que los lípidos son insolubles en agua, el problema de cómo transportarlos en el plasma sanguíneo acuoso se resuelve al asociar lípidos no polares (triacilglicerol y ésteres de colesterol) con lípidos (fosfolípidos y colesterol) y proteínas anfipáticos para hacer **lipoproteínas miscibles en agua**.

Los omnívoros (como el humano) que están alimentándose ingieren calorías en exceso en la fase anabólica del ciclo de alimentación, lo cual va seguido por un periodo de balance calórico negativo cuando el organismo recurre a sus reservas de carbohidratos y grasas. Las lipoproteínas median este ciclo al transportar lípidos desde los intestinos como **quilomicrones** —y desde el hígado como **lipoproteínas de muy baja densidad** (**VLDL**)— hacia casi todos los tejidos para oxidación y hacia el tejido adiposo para almacenamiento. El lípido se moviliza desde el tejido adiposo como ácidos grasos libres (FFA) unidos a la albúmina sérica. Las anormalidades del metabolismo de lipoproteínas dan por resultado diversas **hipolipoproteinemias** o **hiperlipoproteinemias**. La más frecuente de éstas se observa en

CUADRO 25-1 Composición de las lipoproteínas en plasma de humanos

Lipoproteína	Fuente	Diámetro (nm)	Densidad (g/mL)	Composición			
				Proteínas (%)	Lípidos (%)	Principales componentes lípidos	Apolipoproteínas
Quilomicrones	Intestino	90-1000	<0.95	1-2	98-99	Triacilglicerol	A-I, A-II, A-IV,[a] B-48, C-I, C-II, C-III, E
Residuos de quilomicrones	Quilomicrones	45-150	<1.006	6-8	92-94	Triacilglicerol, fosfolípidos, colesterol	B-48, E
VLDL	Hígado (intestino)	30-90	0.95-1.006	7-10	90-93	Triacilglicerol	B-100, C-I, C-II, C-III
IDL	VLDL	25-35	1.006-1.019	11	89	Triacilglicerol, colesterol	B-100, E
LDL	VLDL	20-25	1.019-1.063	21	79	Colesterol	B-100
HDL	Hígado, intestino, VLDL, quilomicrones					Fosfolípidos, colesterol	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D,[b] E
HDL_1		20-25	1.019-1.063	32	68		
HDL_2		10-20	1.063-1.125	33	67		
HDL_3		5-10	1.125-1.210	57	43		
Preβ-HDL[c]		<5	>1.210				A-I
Albúmina/ácidos grasos libres	Tejido adiposo		>1.281	99	1	Ácidos grasos libres	

[a] Secretadas con quilomicrones, pero se transfieren a HDL.
[b] Asociadas con subfracciones HDL_2 y HDL_3.
[c] Parte de una fracción menor conocida como lipoproteínas de muy alta densidad (VHDL).
Abreviaturas: HDL, lipoproteínas de alta densidad; IDL, lipoproteínas de densidad intermedia; LDL, lipoproteínas de baja densidad; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.

la **diabetes mellitus**, en la cual la deficiencia de insulina origina movilización excesiva de FFA y subutilización de quilomicrones y VLDL, lo que conduce a **hipertriacilglicerolemia (hipertrigliceridemia)**. Casi todos los otros estados patológicos que afectan el transporte de lípidos se deben principalmente a defectos hereditarios, algunos de los cuales causan **hipercolesterolemia** y **aterosclerosis** prematura (cuadro 26-1). La **obesidad** —en especial la abdominal— es un factor de riesgo para mortalidad aumentada, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemia, hiperglucemia y diversas disfunciones endocrinas.

LOS LÍPIDOS SE TRANSPORTAN EN EL PLASMA COMO LIPOPROTEÍNAS

En las lipoproteínas hay cuatro clases principales de lípidos

Los lípidos plasmáticos constan de **triacilgliceroles (triglicéridos)** (16%), **fosfolípidos** (30%), **colesterol** (14%) y **ésteres de colesterol** (36%) y una fracción de tamaño mucho menor de ácidos grasos de cadena larga no esterificados (ácidos grasos libres o FFA) (4%). Esta última fracción, los **FFA**, es la más activa de los lípidos plasmáticos desde el punto de vista metabólico.

Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas plasmáticas

Dado que la grasa es menos densa que el agua, la densidad de una lipoproteína disminuye conforme se incrementa la proporción entre lípido y proteína (**cuadro 25-1**). Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas que tienen importancia fisiológica y en el diagnóstico clínico: 1) **quilomicrones**, derivados de la absorción intestinal de triacilglicerol y otros lípidos; 2) **lipoproteínas de muy baja densidad** (VLDL), derivadas del hígado para la exportación de triacilglicerol; 3) **lipoproteínas de baja densidad** (LDL), que representan una etapa final en el catabolismo de VLDL, y 4) **lipoproteínas de alta densidad** (HDL), comprendidas en el transporte de colesterol y en el metabolismo de LDL y de quilomicrones. El triacilglicerol es el lípido predominante en quilomicrones y VLDL, mientras que el colesterol y los fosfolípidos son los lípidos predominantes en LDL y HDL, respectivamente (cuadro 25-1). Las lipoproteínas también pueden ser clasificadas de acuerdo con sus propiedades electroforéticas en **α**- (HDL), **β**- (LDL) y **pre-β**- (VLDL) **lipoproteínas**.

Las lipoproteínas constan de un centro no polar y una capa de lípidos anfipáticos superficial única

El **centro lipídico no polar** consta principalmente de **triacilglicerol** y **éster de colesterol,** y está rodeado por una **capa superficial única** de moléculas de **fosfolípido anfipático** y de **colesterol** (**figura 25-1**). Éstas se encuentran orientadas de modo que sus grupos polares miran hacia afuera, hacia el medio acuoso, como en la membrana celular (capítulos 21 y 40). La porción proteínica de una lipoproteína se conoce como una **apolipoproteína** o **apoproteína,** y constituye cerca de 70% de algunas HDL, y tan poco como 1% en los quilomicrones.

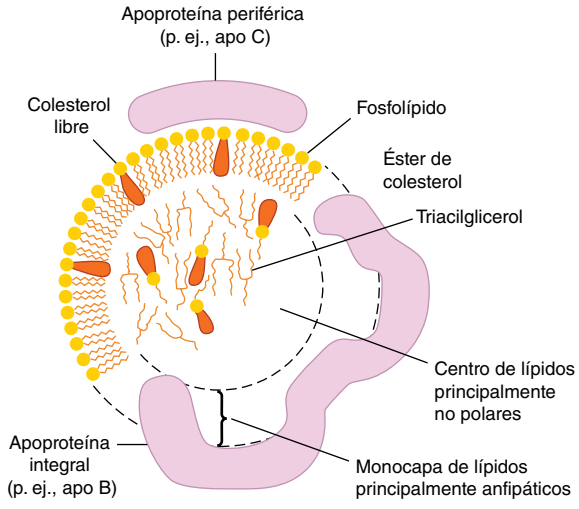


FIGURA 25-1 Estructura generalizada de una lipoproteína plasmática. Cabe hacer notar las similitudes con la estructura de la membrana plasmática. En la capa superficial hay pequeñas cantidades de éster de colesterol y triacilglicerol, y un poco de colesterol libre en el centro.

La distribución de apolipoproteínas caracteriza a la lipoproteína

Una o más apolipoproteínas (proteínas o polipéptidos) están presentes en cada lipoproteína. La abreviatura generalmente es apo, seguida por la letra A, B, C, etc. (cuadro 25-1). Algunas apolipoproteínas son integrales y no se pueden eliminar (p. ej., la apo B), mientras que otras están unidas a la superficie y están libres para transferir a otras lipoproteínas (p. ej., apo C y apo E). Las principales apolipoproteínas de HDL (α-lipoproteína) son apo A (cuadro 25-1). La principal apolipoproteína de la LDL (β-lipoproteína) es la apo B (B-100), que también se encuentra en VLDL. Los quilomicrones contienen una forma truncada de apo B (B-48) que se sintetiza en el intestino, mientras que la B-100 se sintetiza en el hígado. La apo B-100 es una de las cadenas polipeptídicas únicas más largas conocidas; tiene 4 536 aminoácidos, y un peso molecular de 550 000 Da. La apo B-48 (48% de B-100) se forma después de transcripción del gen que codifica para apo B-100 mediante la introducción de una señal de paro en el transcrito de RNA mensajero (mRNA) por una enzima que realiza edición del RNA. Las apo C-I, C-II y C-III son polipéptidos de menor tamaño (masa molecular 7 000 a 9 000 Da) libremente transferibles entre varias lipoproteínas diferentes. La apo E, que se encuentra en VLDL, HDL, quilomicrones y remanentes de quilomicrón, también es libremente transferible; explica 5 a 10% de las apolipoproteínas de VLDL totales en sujetos normales.

Las apolipoproteínas llevan a cabo varias funciones: 1) pueden formar parte de la estructura de la lipoproteína, por ejemplo, apo B; 2) son cofactores de enzimas, por ejemplo, C-II para la lipoproteína lipasa, A-I para la lecitina:colesterol aciltransferasa, o inhibidores de enzima, por ejemplo, apo A-II y apo C-III para la lipoproteína lipasa, apo C-I para la proteína de transferencia de éster de colesterol, y 3) actúan como ligandos para la interacción con receptores de lipoproteína en los tejidos, por ejemplo, apo B-100 y apo E para el receptor de LDL, apo E para la proteína-1 relacionada con receptor de LDL (LRP-1), que se ha identificado como el receptor de remanentes, y apo A-I para el receptor de HDL. Sin embargo, las funciones de la apo A-IV y de la apo D aún no se definen con claridad, aunque se cree que la apo D es un factor importante en trastornos neurodegenerativos en humanos.

LOS FFA SE METABOLIZAN CON RAPIDEZ

Los **FFA** (también conocidos como ácidos grasos no esterificados) surgen en el plasma a partir de la desintegración de triacilglicerol en el tejido adiposo, o como resultado de la acción de la lipoproteína lipasa sobre los triacilgliceroles plasmáticos. En la sangre se encuentran **en combinación con la albúmina**, un solubilizante muy eficaz, en concentraciones que varían entre 0.1 y 2.0 μeq/mL. Las cifras son bajas cuando el individuo está completamente alimentado y aumentan hasta 0.7 a 0.8 μeq/mL en el estado de inanición. En la **diabetes mellitus** no controlada, la concentración puede incrementarse hasta 2 μeq/mL.

Los FFA se eliminan de la sangre con rapidez extrema y se oxidan (lo que satisface 25 a 50% de los requerimientos de energía en la inanición) o se esterifican para formar triacilglicerol en los tejidos. En la inanición, los lípidos esterificados de la circulación o en los tejidos también se oxidan, de modo particular en células del corazón y el músculo estriado, donde se encuentran considerables reservas de lípido.

La captación de FFA por los tejidos muestra vínculo directo con las cifras plasmáticas de FFA que, a su vez, están determinadas por el índice de lipólisis en el tejido adiposo. Luego de disociación del complejo de ácido graso-albúmina en la membrana plasmática, los ácidos grasos se unen a una **proteína de transporte de ácido graso de membrana** que actúa como un cotransportador de membrana con Na^+. En el momento de entrar al citosol, los FFA son unidos por **proteínas de unión a ácido graso** intracelulares. Se cree que la función de estas proteínas en el transporte intracelular es similar a la de la albúmina sérica en el transporte extracelular de ácidos grasos de cadena larga.

EL TRIACILGLICEROL SE TRANSPORTA DESDE LOS INTESTINOS EN QUILOMICRONES Y DESDE EL HÍGADO EN LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD

Por definición, los **quilomicrones** se encuentran en el **quilo** formado sólo por el sistema linfático que **drena el intestino**. Se encargan del transporte de todos los lípidos de la dieta hacia la circulación. También se encuentran pequeñas cantidades de VLDL en el quilo; sin embargo, casi todas las **VLDL en el plasma** son de origen hepático. **Son los vehículos de transporte de triacilglicerol desde el hígado hacia los tejidos extrahepáticos.**

Hay notorias similitudes en los mecanismos de formación de quilomicrones por las células intestinales y de VLDL por las células del parénquima hepático (**figura 25-2**), quizá porque —aparte de la glándula mamaria— el intestino y el hígado son los únicos tejidos a partir de los cuales se secreta lípido particulado.

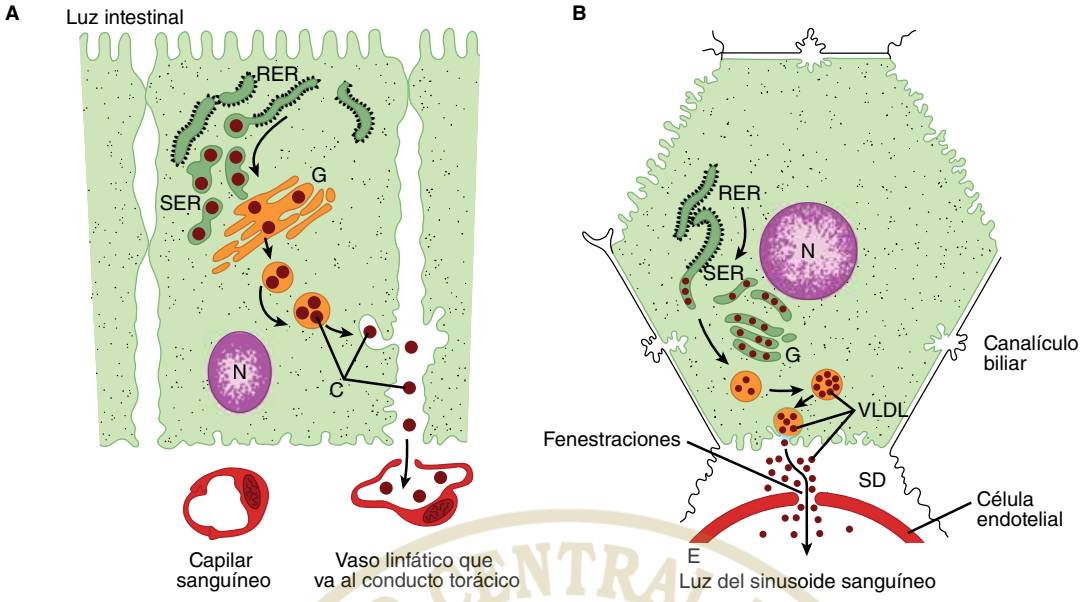


FIGURA 25-2 La formación y excreción de (A) quilomicrones por una célula intestinal y (B) VLDL por una célula hepática. (RER, retículo endoplásmico rugoso; REL, retículo endoplásmico liso; G, aparato de Golgi; N, núcleo; C, quilomicrones; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad; E, endotelio; ED, espacio de Disse, que contiene plasma sanguíneo). La apolipoproteína B, sintetizada en el RER, se incorpora en lipoproteínas en partículas con triacilglicerol, coloesterol y fosfolípidos en el REL. Luego de la adición de residuos carbohidrato en el G, se liberan de las células mediante pinocitosis inversa. Los quilomicrones pasan hacia el sistema linfático. La VLDL se secreta hacia el ED y después hacia los sinusoides hepáticos a través de fenestraciones en el revestimiento endotelial.

Los quilomicrones y las VLDL recién secretados o "nacientes" sólo contienen una pequeña cantidad de apolipoproteínas C y E, y las proteínas apo complementarias se adquiere a partir de HDL en la circulación (**figuras 25-3** y **25-4**). Sin embargo, la apo B es una parte integral de las partículas de lipoproteína, está incorporada dentro de las partículas durante su ensamble dentro de las células, y es esencial para la formación de quilomicrones y de VLDL. En la **abetalipoproteinemia** (una enfermedad rara), no se forman lipoproteínas que contienen apo B, y se acumulan gotitas de lípido en el intestino e hígado.

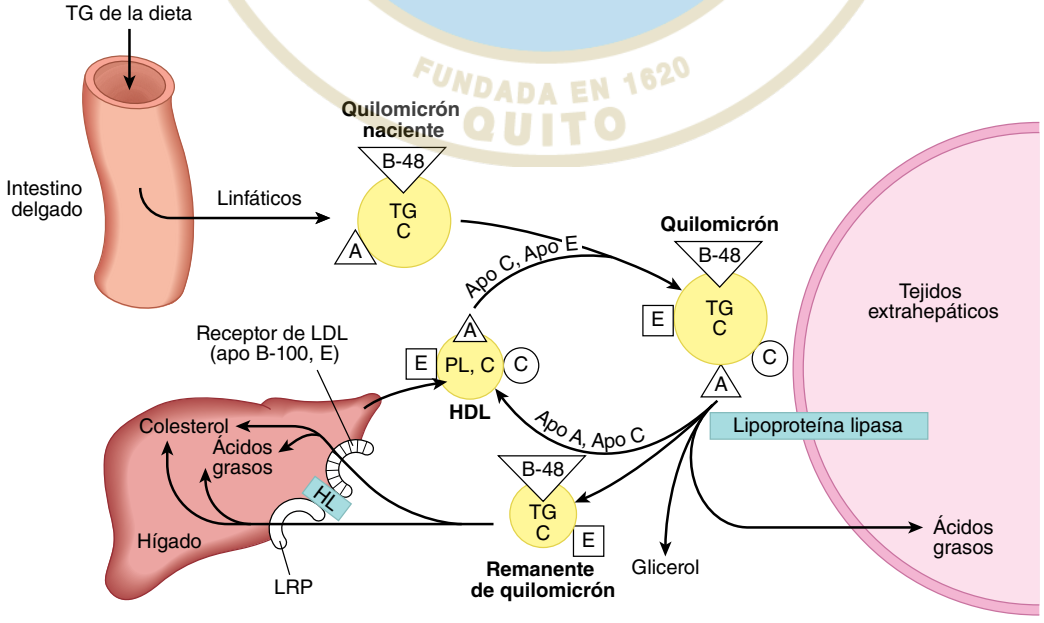


FIGURA 25-3 Destino metabólico de quilomicrones. (A, apolipoproteína A; B-48, apolipoproteína B-48; C, apolipoproteína C; E, apolipoproteína E; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triacilglicerol; C, colesterol y éster de colesterol; PL, fosfolípido; HL, lipasa hepática; LRP, proteína relacionada con el receptor de LDL). Sólo se muestran los lípidos predominantes.

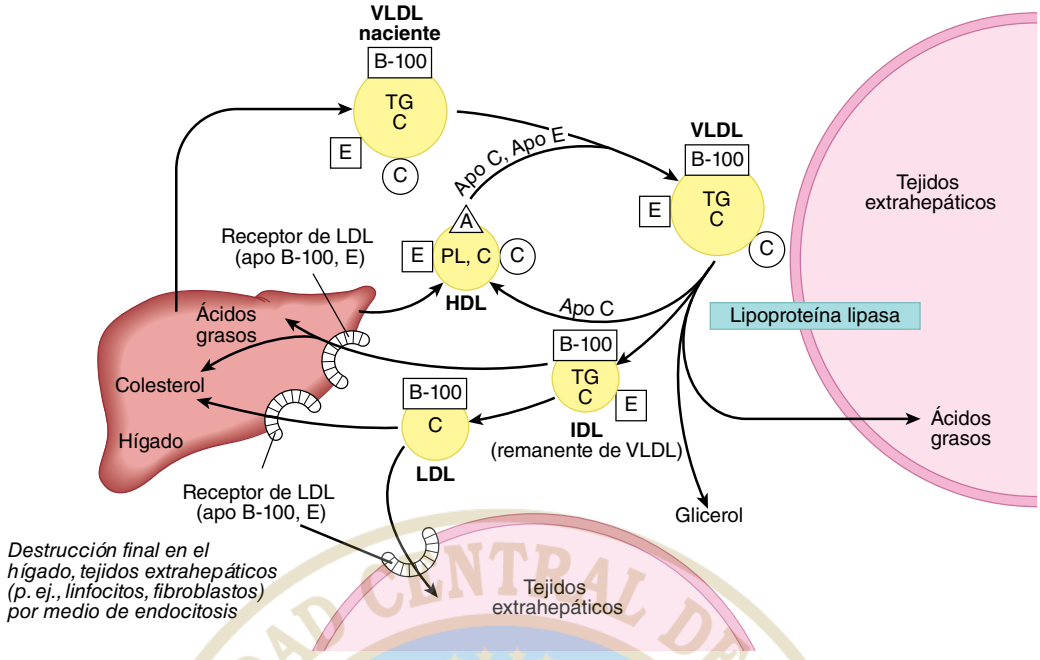


FIGURA 25-4 Destino metabólico de VLDL y producción de LDL. (A, apolipoproteína A; B-100, apolipoproteína B-100; C, apolipoproteína C; E, apolipoproteína E; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triacilglicerol; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; C, colesterol y éster de colesterol; PL, fosfolípido). Sólo se muestran los lípidos predominantes. Es posible que algo de IDL también se metabolice por medio de la LRP, proteína relacionada con receptor de lipoproteínas de baja densidad.

A continuación se presenta una exposición más detallada de los factores que controlan la secreción hepática de VLDL.

LOS QUILOMICRONES Y LAS LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD SE CATABOLIZAN CON RAPIDEZ

La depuración de quilomicrones de la sangre es rápida; el tiempo medio de desaparición es de menos de 1 hora en humanos. Las partículas de mayor tamaño se catabolizan con mayor rapidez que las de menor tamaño. Los ácidos grasos que se originan a partir del triacilglicerol de quilomicrón van de modo predominante al tejido adiposo, corazón y músculo (80%), mientras que alrededor de 20% va al hígado. Con todo, **el hígado no metaboliza quilomicrones o VLDL naturales de modo significativo**; así, los ácidos grasos en el hígado deben ser secundarios a su metabolismo en tejidos extrahepáticos.

Los triacilgliceroles de quilomicrones y VLDL se hidrolizan por medio de la lipoproteína lipasa para formar lipoproteínas remanentes

La **lipoproteína lipasa** está localizada sobre las paredes de los capilares sanguíneos y anclada al endotelio mediante cadenas de proteoglucano con carga negativa de heparán sulfato. Se ha encontrado en el corazón, el tejido adiposo, el bazo, pulmones, médula renal, aorta, diafragma y glándula mamaria en lactación, aunque no es activa en el hígado de adultos. Por lo general no se encuentra en sangre; aun así, después de la inyección de **heparina** se libera lipoproteína lipasa desde sus sitios de unión a heparán sulfato hacia la circulación. La **lipasa hepática** está unida a la superficie sinusoidal de células hepáticas, y la heparina también la libera. Como quiera que sea, esta enzima no reacciona con facilidad con quilomicrones o VLDL, sino que participa en el metabolismo de remanente de quilomicrón y de HDL.

Tanto los **fosfolípidos** como la **apo C-II** se requieren como cofactores para la actividad de la lipoproteína lipasa, mientras que la **apo A-II** y la **apo C-III** actúan como inhibidores. La hidrólisis tiene lugar mientras las lipoproteínas están fijas a la enzima sobre el endotelio. El triacilglicerol se hidroliza de manera progresiva pasando por un diacilglicerol hasta un monoacilglicerol y, por último, hacia FFA más glicerol. Algunos de los FFA liberados regresan a la circulación, fijos a albúmina, pero la mayor parte se transporta hacia el tejido (figuras 25-3 y 25-4). La lipoproteína lipasa cardíaca tiene una K_m baja para triacilglicerol, alrededor de una décima parte de aquélla para la enzima en el tejido adiposo. Esto permite que el suministro de ácidos grasos provenientes de triacilglicerol se **redirija desde el tejido adiposo hacia el corazón en el estado de inanición** cuando hay decremento del triacilglicerol plasmático. Ocurre una redirección similar hacia la glándula mamaria durante la lactación, lo que permite la captación de ácido graso de triacilglicerol de lipoproteína para la síntesis de **grasa de la leche**. El **receptor de VLDL** tiene importancia en el suministro de ácidos grasos desde triacilglicerol de VLDL hacia adipocitos al unir VLDL y llevarla en contacto estrecho con la lipoproteína lipasa. En el tejido adiposo, la **insulina** induce la síntesis de lipoproteína lipasa en los adipocitos, y su translocación hacia la superficie luminal del endotelio capilar.

La reacción con lipoproteína lipasa causa la pérdida de 70 a 90% del triacilglicerol de quilomicrones, y la pérdida de apo C

(que regresa a HDL), no así de apo E, que se retiene. El **remanente de quilomicrón** resultante tiene alrededor de la mitad del diámetro del quilomicrón original, y está relativamente enriquecido en colesterol y ésteres de colesterol debido a la pérdida de triacilglicerol (figura 25-3). Ocurren cambios similares a VLDL, con la formación de **remanentes de VLDL** (también denominados **lipoproteínas de densidad intermedia [IDL]**) (figura 25-4).

El hígado se encarga de la captación de lipoproteínas remanentes

El hígado capta remanentes de quilomicrón por medio de endocitosis mediada por receptor, los ésteres de colesterol y triacilgliceroles se hidrolizan, además de que metabolizan. La captación está mediada por **apo E** (figura 25-3), mediante dos receptores dependientes de apo E, el **receptor de LDL (apo B-100, E)** y la **LRP-1** (proteína-1 relacionada con receptor de LDL). La lipasa hepática tiene una función doble: 1) actúa como un ligando para facilitar la captación de remanentes, y 2) hidroliza el triacilglicerol y fosfolípido remanente.

Luego de metabolismo hacia IDL, la VLDL puede ser captada de modo directo por el hígado por medio del receptor de LDL (apo B-100, E), o convertirse en LDL. En cada una de estas partículas de lipoproteína sólo hay una molécula de apo B-100 y ésta se conserva en el transcurso de las transformaciones. De esta manera, cada partícula de LDL se deriva de una partícula de VLDL precursora única (figura 25-4). En seres humanos, una proporción relativamente grande de IDL forma LDL, lo que explica las concentraciones incrementadas del LDL en seres humanos en comparación con muchos otros mamíferos.

LA LDL SE METABOLIZA POR MEDIO DEL RECEPTOR DE LDL

El hígado y muchos otros tejidos extrahepáticos expresan **el receptor de LDL (apo B-100, E)**; recibe ese nombre porque es específico para apo B-100, no así para B-48, que carece del dominio terminal carboxilo de B-100 que contiene el ligando receptor de LDL, y capta también lipoproteínas ricas en apo E. 30% de la LDL se degrada en tejidos extrahepáticos y 70% en el hígado. Hay una correlación positiva entre la incidencia de **aterosclerosis** y las cifras plasmáticas de colesterol de LDL. El receptor de LDL (apo B-100, E) es defectuoso en la **hipercolesterolemia familiar**, enfermedad genética que aumenta las concentraciones de colesterol de LDL y genera aterosclerosis prematura (cuadro 26-1). En el capítulo 26 se presentan más detalles de la regulación del receptor de LDL.

LA HDL PARTICIPA EN EL METABOLISMO TANTO DE LAS LIPOPROTEÍNAS QUE CONTIENEN TRIGLICÉRIDO COMO DE LAS QUE TIENEN COLESTEROL

La **HDL** se sintetiza tanto en hígado como en intestino y se secreta a partir de los mismos (**figura 25-5**). De cualquier modo, la apo C y la apo E se sintetizan en el hígado y se transfieren desde la HDL hepática hacia la HDL intestinal cuando esta última entra en el plasma. Una función importante de la HDL es actuar como

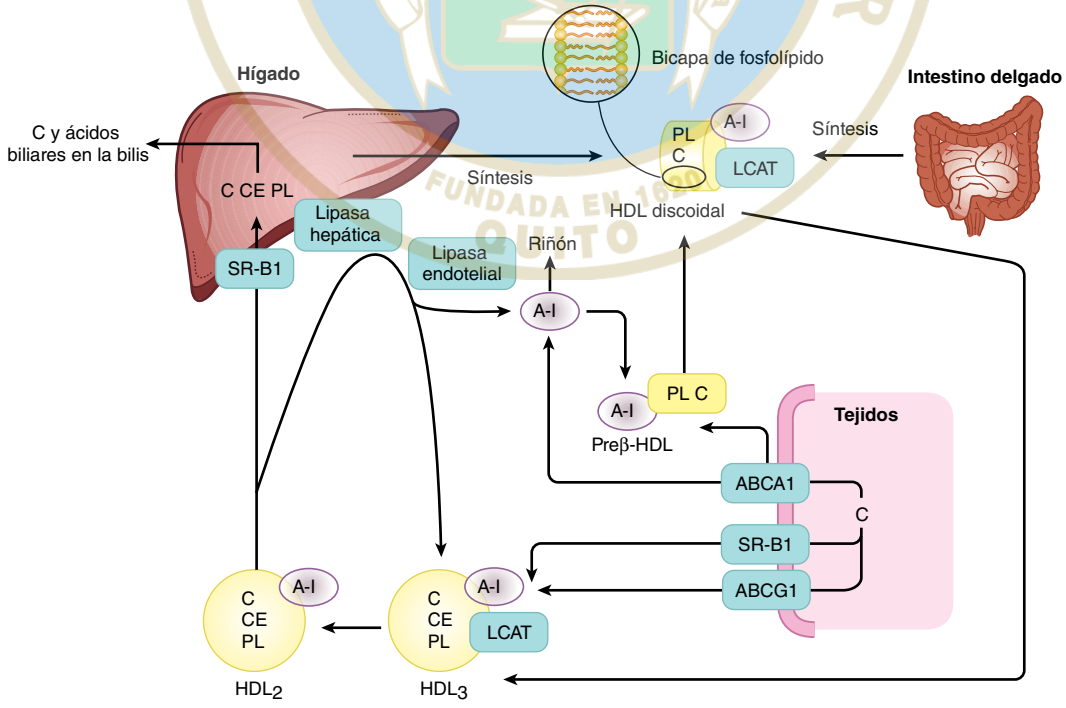


FIGURA 25-5 Metabolismo de HDL en el transporte inverso de colesterol. (LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; C, colesterol; CE, éster de colesterol; PL, fosfolípido; A-I, apolipoproteína A-I; SR-B1, receptor recolector B1; ABCA1, transportadores de casete A1 de unión a ATP; ABCG1, transportadores de casete G1 de unión a ATP). Preβ-HDL, HDL_2, HDL_3 (cuadro 25-1). Los constituyentes de superficie excedentes por la acción de la lipoproteína lipasa sobre los quilomicrones y VLDL son otra fuente de preβ-HDL. La actividad de lipasa hepática es incrementada por andrógenos y disminuida por estrógenos, lo cual quizás explique las cifras plasmáticas más altas de HDL_2 en mujeres.

un depósito para la apo C y apo E requeridas en el metabolismo de quilomicrones y VLDL. La HDL naciente consta de bicapas de fosfolípido discoidales que contienen apo A y colesterol libre. Estas lipoproteínas son similares a las partículas que se encuentran en el plasma de enfermos que tienen una deficiencia de la enzima plasmática **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)** y en el de aquellos con **ictericia obstructiva**. La LCAT —y el activador de LCAT apo A-I— se unen a las partículas discoidales, y el fosfolípido de superficie y el colesterol libre se convierten en ésteres de colesterol y lisolecitina (capítulo 24). Los ésteres de colesterol no polares se mueven hacia el interior hidrofóbico de la bicapa, mientras que la lisolecitina se transfiere hacia la albúmina plasmática. De este modo, se genera un centro no polar, lo que forma una HDL seudomicelar, esférica, cubierta por una película superficial de lípidos y apolipoproteínas polares. Esto ayuda a la eliminación de colesterol no esterificado excesivo desde lipoproteínas y tejidos (véase más adelante). El **receptor basurero B1 clase B (SR-B1)** ha sido identificado como un **receptor de HDL con una función doble en el metabolismo de HDL**. En el hígado y en tejidos esteroidogénicos, se une a la HDL por medio de la apo A-I, y el éster de colesterol se lleva de manera selectiva hacia las células, aunque la partícula en sí, incluso apo A-I, no es captada. Por otra parte, en los tejidos, el SR-B1 media la aceptación del colesterol que sale de las células por la HDL, que después lo transporta hacia el hígado para excreción mediante la bilis (sea como colesterol o luego de conversión en ácidos biliares) en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (figura 25-5). La HDL_3, generada a partir de HDL discoidal por medio de la acción de LCAT, acepta colesterol proveniente de los tejidos mediante el **SR-B1**, y a continuación la LCAT esterifica el colesterol, lo que incrementa el tamaño de las partículas para formar la HDL_2 menos densa. Después se vuelve a formar HDL_3, ya sea después de suministro selectivo de éster de colesterol al hígado por medio del SR-B1 o mediante hidrólisis de fosfolípido y triacilglicerol de HDL_2 por medio de la lipasa hepática y la lipasa endotelial. Este intercambio de HDL_2 y HDL_3 se llama el **ciclo de HDL** (figura 25-5). La apo A-I libre se libera mediante estos procesos y forma **preβ-HDL** luego de relacionarse con una cantidad mínima de fosfolípido y colesterol. La apo A-I excesiva se destruye en los riñones. Un segundo mecanismo importante para el transporte inverso de colesterol comprende los **transportadores con casete A1 que unen ATP (ABCA1)** y **G1 (ABCG1)**, los cuales son miembros de una familia de proteínas transportadoras que unen la hidrólisis de ATP a la unión de un sustrato, lo que permite que se transporten a través de la membrana. El ABCG1 media el transporte de colesterol desde células hacia HDL, mientras que el ABCA1 promueve de preferencia el flujo de salida de partículas con pocos lípidos, como preβ-HDL o apo A-1, que después se convierten en HDL_3 por medio de la HDL discoidal (figura 25-5). La preβ-HDL es la forma más potente de HDL que induce el flujo de salida de colesterol desde los tejidos.

Las cifras de HDL varían de modo recíproco con las concentraciones plasmáticas de triacilglicerol, y de manera directa con la actividad de la lipoproteína lipasa. Esto puede deberse a constituyentes de superficie excesivos, por ejemplo, fosfolípido y apo A-I, que se liberan durante la hidrólisis de quilomicrones y VLDL, y contribuyen a la formación de preβ-HDL y HDL discoidal. Las cifras de HDL_2 **muestran relación inversa con la incidencia de aterosclerosis,** quizá porque reflejan la eficiencia del transporte de colesterol inverso. El HDL_c (HDL_1) se encuentra en la sangre de animales con hipercolesterolemia inducida por la dieta. Tiene alto contenido de colesterol, y su única apolipoproteína es la apo E. Parece ser que todas las lipoproteínas plasmáticas son componentes interrelacionados de uno o más ciclos metabólicos que juntos se encargan del proceso complejo del transporte de lípidos en el plasma.

EL HÍGADO DESEMPEÑA UNA FUNCIÓN FUNDAMENTAL EN EL TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LÍPIDOS

El hígado efectúa las funciones importantes que siguen en el metabolismo de lípidos:

1. Facilita la digestión y absorción de lípidos mediante la producción de **bilis**, que contiene colesterol y sales biliares sintetizados dentro del hígado *de novo* o luego de captación del colesterol que proviene de lipoproteína (capítulo 26).
2. **Sintetiza y oxida ácidos grasos** de modo activo (capítulos 22 y 23), y sintetiza triacilgliceroles y fosfolípidos (capítulo 24).
3. **Convierte ácidos grasos en cuerpos cetónicos (cetogénesis)** (capítulo 22).
4. Tiene una participación esencial en **la síntesis y el metabolismo de proteínas plasmáticas** (este capítulo).

La secreción de VLDL hepática está relacionada con el estado en cuanto a la dieta y hormonal

Los eventos celulares involucrados en la formación de VLDL y la secreción de las mismas ya se describieron (figura 25-2), y se muestran en la **figura 25-6**. El montaje de VLDL en el hígado requiere la síntesis de apoB100, y una fuente de triacilglicerol. La apoB100 es sintetizada en polirribosomas, y translocada a la luz del retículo endoplasmático a medida que se forma. Conforme la proteína entra a la luz se llena con lípidos con fosfolípido con la ayuda de la **proteína de transferencia de triglicérido microsomal (MTP),** que también facilita la transferencia de triacilglicerol a través de la membrana del ER, y se forman partículas de **VLDL2** que contiene apoB (o VLDL precursora). El triacilglicerol (TG) se deriva de la lipólisis de gotitas de lípido de TG citosólicas, y se reesterifica en una vía que requiere derivados de fosfolípido y diacilglicerol aciltransferasas. El TG que no se usa para la formación de VLDL1 es reciclado a las gotitas citosólicas. Después de montaje en el ER, las VLDL2 son transportadas en vesículas de COPII (capítulo 49) al aparato de Golgi, donde se fusionan con gotitas de lípidos ricas en TG para producir **VLDL1**. El ácido fosfatídico producido por la acción de la fosfolipasa D cuando es activada por una proteína de unión a GTP pequeña llamada factor de ribosilación de ADP-1 (ARF-1) se necesita para la formación de las partículas ricas en TG y/o VLDL2. Si bien algunas partículas de VLDL2 pueden secretarse sin fusión, casi todas las partículas que abandonan la célula están en forma de VLDL1. Estas VLDL nacientes a continuación adquieren apolipoproteínas C y E provenientes de la HDL en la circulación, y se convierten en VLDL maduras.

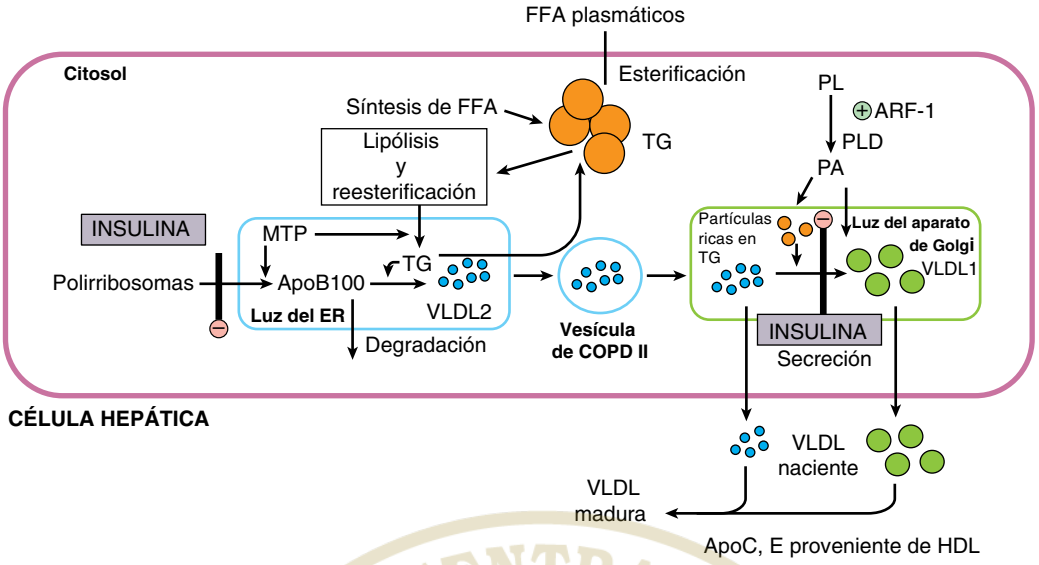


FIGURA 25-6 **El ensamblaje de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) en el hígado** (Apo, apolipoproteína; ARF-1, factor de ribosilación de ADP-1; FFA, ácidos grasos libres; HDL, lipoproteínas de alta densidad; MTP, proteína de transferencia de triacilglicerol microsomal; PA, ácido fosfatídico; PL, fosfolípido; PLD, fosfolipasa D; TG, triacilglicerol). Las vías indicadas forman una base para los eventos representados en la figura 25-2. La apo B-100 se sintetiza en polirribosomas, y es lipidada con PL por la MTP conforme entra a la luz del ER. Cualquier exceso es degradado en proteasomas. La TG derivada de lipólisis de gotitas de lípido citosólicas seguida por resíntesis es transferida hacia la luz del ER con la ayuda de la MTP, e interactúa con apoB-100, lo cual forma VLDL2. El TG excesivo es reciclado a las gotitas de lípido citosólicas. Las VLDL2 son translocadas hacia el aparato de Golgi en vesículas de COPII donde se fusionan con partículas ricas en TG para formar VLDL1. El PA se produce por activación de PLD por ARF-1, y es incorporado en las VLDL1 y/o VLDL2 ricas en TBG. Tanto las VLDL1 como las VLDL2 pueden secretarse hacia la sangre. La insulina inhibe la secreción de VLDL al inhibir la síntesis de apoB-100 y la formación de VLDL1 a partir de VLDL2.

El triacilglicerol para la formación de VLDL se sintetiza a partir de FFA. Los ácidos grasos usados se derivan de dos posibles fuentes: 1) síntesis en el hígado a partir de **acetil-CoA** derivada principalmente de carbohidratos (tal vez no tan importante en humanos) y 2) captación de **FFA** desde la circulación. La primera fuente predomina en el estado bien alimentado, cuando la síntesis de ácidos grasos es alta y la concentración de FFA circulantes es baja. Dado que en estas condiciones el triacilglicerol por lo normal no se acumula en el hígado, debe inferirse que se transporta desde dicho órgano en VLDL con tanta rapidez como se sintetiza. Los FFA que provienen de la circulación son la principal fuente en el transcurso de inanición, el consumo de dietas con alto contenido de grasa, o en la diabetes mellitus, cuando la lipogénesis hepática está inhibida. Los factores que aumentan tanto la síntesis de triacilglicerol como la secreción de VLDL por el hígado son: 1) el estado posprandial más que el de inanición; 2) el consumo de dietas con alto contenido de carbohidratos (en particular si contienen sacarosa o fructosa), lo que lleva a índices altos de lipogénesis y esterificación de ácidos grasos; 3) cifras altas de FFA circulantes; 4) ingestión de etanol, y 5) la presencia de concentraciones altas de insulina, y bajas de glucagón, lo que incrementa la síntesis y la esterificación de ácidos grasos, e inhibe su oxidación.

La insulina suprime la secreción hepática de VLDL tanto al inhibir la síntesis de apo 100 como al inhibir la conversión de la VLDL2 más pequeña en VLDL1 por fusión con TG en conjunto. Algunos otros factores que se sabe que inhiben el montaje de VLDL en el hígado o lo evitan son el antibiótico brefeldina A, que inhibe la acción del ARF-1; el fármaco hipoglucemiante sulfonilurea, tolbutamida, los ácidos grasos ω3 en la dieta (capítulo 21), y el ácido orótico, un intermediario en la síntesis de pirimidinas (capítulo 33), disminuyen la tasa de lipólisis de TG, y un defecto en el gen que codifica para MTP. Por otro lado, la glucosa aumenta la producción de VLDL al promover la lipólisis de TG. La regulación de la formación de VLDL en el hígado es compleja y comprende interacciones entre factores hormonales y de la dieta que todavía no se entienden por completo.

ASPECTOS CLÍNICOS

El desequilibrio del índice de la formación y exportación de triacilglicerol produce hígado graso

Por diversas razones, los lípidos —principalmente como triacilglicerol— pueden acumularse en el hígado (figura 25-6). La acumulación extensa se considera un estado patológico. La **enfermedad de hígado graso no alcohólico** es el trastorno hepático más frecuente en todo el mundo. Cuando la acumulación de lípido en el hígado se hace crónica, pueden aparecer cambios inflamatorios y fibróticos que llevan a **esteatohepatitis no alcohólica**, la cual puede progresar hacia enfermedades del hígado, entre ellas **cirrosis**, **hepatocarcinoma** e **insuficiencia hepática**.

Los hígados grasos caen dentro de dos categorías principales. El primer tipo muestra vínculo con **cifras plasmáticas aumentadas de FFA** que dependen de la movilización de grasa desde el tejido adiposo o de la hidrólisis de triacilglicerol de lipoproteína

por la lipoproteína lipasa en tejidos extrahepáticos. La producción de VLDL no lleva el mismo ritmo que el flujo hacia adentro y esterificación cada vez mayores de FFA, lo que permite que se acumule triacilglicerol, que a su vez ocasiona hígado graso. Esto ocurre durante la **inanición** y el consumo de **dietas con alto contenido de grasa**. También puede haber alteración de la capacidad para secretar VLDL (p. ej., en la inanición). En la **diabetes mellitus** no controlada, la **enfermedad de los corderos gemelos** y la **cetosis en ganado vacuno**, la infiltración grasa es lo bastante grave como para dar por resultado palidez (aspecto adiposo) visible y agrandamiento del hígado con posible disfunción hepática.

El segundo tipo de hígado graso por lo general se debe a un **bloqueo metabólico en la producción de lipoproteínas plasmáticas**, lo que permite que se acumule triacilglicerol. En teoría, la lesión puede deberse a 1) un bloqueo de la síntesis de apolipoproteína (o un incremento de su degradación antes de que pueda incorporarse hacia VLDL), 2) bloqueo de la síntesis de la lipoproteína a partir de lípido y apolipoproteína, 3) fracaso en el suministro de fosfolípidos que se encuentran en las lipoproteínas, o 4) fracaso del mecanismo secretorio mismo.

Un tipo de hígado graso que se ha estudiado de manera extensa en ratas se produce por una deficiencia de **colina** que, en consecuencia, se ha llamado un **factor lipotrópico**. El antibiótico puromicina, la etionina (ácido α-amino-γ-mercaptobutírico), el tetracloruro de carbono, cloroformo, fósforo, plomo y arsénico originan hígado graso, y una notoria reducción de la concentración de VLDL en sangre de ratas. La colina no protegerá al organismo contra estos agentes, pero parece ayudar en la recuperación. La acción del tetracloruro de carbono probablemente comprende la formación de radicales libres que causan peroxidación lípida. La acción antioxidante de dietas complementadas con **vitamina E** proporciona cierta protección contra esto. Se cree que la acción de la etionina depende de una reducción de la disponibilidad de ATP debido a que reemplaza metionina en la *S*-adenosilmetionina, lo que atrapa la adenina disponible y evita la síntesis de ATP. El **ácido orótico** también suscita hígado graso; se cree que interfiere con la glucosilación de la lipoproteína, lo que inhibe la liberación, y puede alterar también el reclutamiento de triacilglicerol hacia las partículas. Una deficiencia de vitamina E incrementa la necrosis hepática del tipo de hígado graso de deficiencia de colina. La vitamina E o una fuente de **selenio** añadida tiene un efecto protector al combatir la peroxidación lípida. Además de deficiencia de proteína, las deficiencias de ácido graso esencial y de vitamina (p. ej., ácido linoleico, piridoxina y ácido pantoténico) pueden producir infiltración adiposa del hígado.

El etanol también ocasiona hígado graso

El **hígado graso de origen alcohólico** es la primera etapa de la **hepatopatía alcohólica** causada por **alcoholismo** y, por último, produce **cirrosis**. La grasa se acumula en el hígado por una combinación de oxidación de ácidos grasos alterada y aumento de la lipogénesis, que se cree se debe a cambios del potencial redox [NADH]/[NAD+] en el hígado, y a interferencia con la acción de factores de transcripción que regulan la expresión de las enzimas comprendidas en las vías. La oxidación de etanol por la **alcohol deshidrogenasa** da pie a la producción excesiva de NADH, el cual compite con equivalentes reductores provenientes de otros sustratos, entre ellos ácidos grasos, por la cadena respiratoria; ello inhibe su oxidación y da por resultado incremento de la esterificación de ácidos grasos para formar triacilglicerol, lo que origina hígado graso. La oxidación del etanol lleva a la formación de acetaldehído, que es oxidado por la **aldehído deshidrogenasa**, lo que produce acetato. La proporción [NADH]/[NAD^+] aumentada también origina incremento del (lactato)/(piruvato), lo que causa **hiperlacticacidemia**, que aminora la excreción de ácido úrico, lo cual agrava la **gota**.

Algo del metabolismo de etanol tiene lugar por medio de un oxidante de etanol microsómico (MEOS) dependiente del citocromo P450, que comprende NADPH y O_2. La actividad de este sistema aumenta en el **alcoholismo crónico**, y puede explicar el incremento de la depuración metabólica en esta enfermedad. El etanol también inhibe el metabolismo de algunos fármacos, por ejemplo, barbitúricos, al competir por enzimas dependientes del citocromo P450.

En algunas poblaciones asiáticas y entre indios americanos, el consumo de alcohol suscita reacciones adversas aumentadas al acetaldehído debido a un defecto genético de la aldehído deshidrogenasa mitocondrial.

EL TEJIDO ADIPOSO ES LA PRINCIPAL RESERVA DE TRIACILGLICEROL EN EL CUERPO

Los triacilgliceroles se almacenan en el tejido adiposo en **gotitas de lípido** grandes, y están pasando de modo continuo por lipólisis (hidrólisis) y reesterificación. Estos dos procesos son vías por completo diferentes que comprenden distintos reactivos y enzimas. Lo anterior permite que muchos factores nutricionales, metabólicos y hormonales regulen por separado los procesos de esterificación o lipólisis. El equilibrio entre estos dos procesos determina la magnitud del fondo común de FFA en el tejido adiposo que, a su vez, determina las cifras de FFA circulantes en plasma. Puesto que esta última tiene efectos más profundos sobre el metabolismo de otros tejidos, en particular el hígado y el músculo, los factores que operan en el tejido adiposo que regulan el flujo de salida de FFA ejercen una influencia más allá del tejido mismo. Más aún, desde el descubrimiento durante los últimos 20 años de que el tejido adiposo secreta hormonas como leptina y adiponectina, conocidas como adipocinas, se ha reconocido su papel como un órgano endocrino. La leptina regula la homeostasis de energía al estimular el uso de energía y limitar la ingestión de alimentos. Si falta leptina, la ingestión de alimentos puede ser descontrolada, lo cual causa obesidad. La adiponectina modula el metabolismo de la glucosa y de lípidos en el músculo y el hígado, y aumenta la sensibilidad de los tejidos a la insulina.

El suministro de glicerol 3-fosfato regula la esterificación: la lipasa sensible a hormona controla la lipólisis

El triacilglicerol se sintetiza a partir de acil-CoA y glicerol 3-fosfato (figura 24-2). Dado que la enzima **glicerol cinasa** no se expresa en el tejido adiposo, el glicerol no puede utilizarse para el suministro de glicerol 3-fosfato, que debe obtenerse a partir de la glucosa mediante glucólisis (**figura 25-7**).

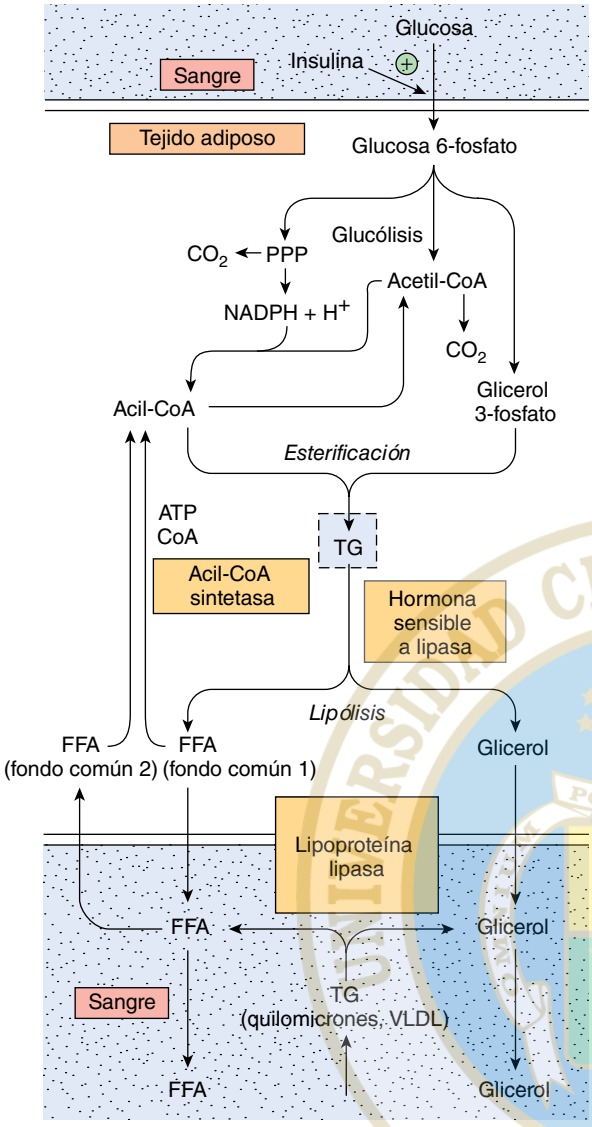


FIGURA 25-7 Metabolismo del triacilglicerol en el tejido adiposo. La lipasa sensible a hormona es activada por ACTH, TSH, glucagón, epinefrina, norepinefrina y vasopresina, e inhibida por insulina, prostaglandina E1 y ácido nicotínico. Los detalles de la formación de glicerol 3-fosfato a partir de intermediarios de la glucólisis se muestran en la figura 24-2. (PPP, vía de la pentosa fosfato; TG, triacilglicerol; FFA, ácidos grasos libres; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad).

El triacilglicerol pasa por hidrólisis por medio de una **lipasa sensible a hormona** para formar FFA y glicerol. Esta lipasa es distinta de la lipoproteína lipasa, que cataliza la hidrólisis de triacilglicerol de lipoproteína antes de su captación hacia tejidos extrahepáticos (véase antes). Puesto que el glicerol no puede utilizarse, entra en la sangre y es captado y transportado hacia tejidos como el hígado y los riñones, que poseen una glicerol cinasa activa. Los FFA formados mediante lipólisis pueden reconvertirse en el tejido adiposo hacia acil-CoA por la **acil-CoA sintetasa** y reesterificarse con glicerol 3-fosfato para formar triacilglicerol. Así, hay un **ciclo continuo de lipólisis y reesterificación dentro del tejido** (figura 25-7). No obstante, cuando el índice de reesterificación no basta para igualar el índice de lipólisis, se acumulan FFA y se difunden hacia el plasma, donde se unen a la albúmina e incrementan la concentración plasmática de FFA.

El metabolismo de glucosa aumentado reduce el gasto de FFA

Cuando hay incremento de la utilización de glucosa por el tejido adiposo, el flujo de salida de FFA disminuye. Sin embargo, la liberación de glicerol continúa, lo que demuestra que el efecto de la glucosa no está mediado por reducción del índice de lipólisis. El efecto se debe al suministro de glicerol 3-fosfato, que aumenta la esterificación de FFA. La glucosa puede tomar varias vías en el tejido adiposo, entre ellas oxidación hacia CO_2 por medio del ciclo del ácido cítrico, oxidación en la vía de la pentosa fosfato, conversión en ácidos grasos de cadena larga, y formación de acilglicerol mediante el glicerol 3-fosfato (figura 25-7). Cuando la utilización de glucosa es alta, una proporción más grande de la captación se oxida hacia CO_2, y se convierte en ácidos grasos. Empero, a medida que la utilización total de glucosa disminuye, la mayor proporción de la glucosa se dirige hacia la formación de glicerol 3-fosfato para la esterificación de acil-CoA, lo que ayuda a minimizar el flujo de salida de FFA.

LAS HORMONAS REGULAN LA MOVILIZACIÓN DE GRASA

La insulina inhibe la lipólisis en el tejido adiposo

El índice de liberación de FFA a partir del tejido adiposo está afectado por muchas hormonas que influyen sobre el índice de esterificación o el de lipólisis. La **insulina** inhibe la liberación de FFA a partir del tejido adiposo, lo cual va seguido por decremento de los FFA que circulan en el plasma. La insulina también incrementa la lipogénesis y la síntesis de acilglicerol, así como la oxidación de glucosa hacia CO_2 por medio de la vía de la pentosa fosfato. Todos estos efectos dependen de la presencia de glucosa y pueden explicarse, en gran medida, con base en la capacidad de la insulina para aumentar la captación de glucosa hacia las células adiposas mediante el **transportador GLUT 4**. La insulina también incrementa la actividad de las enzimas piruvato deshidrogenasa, acetil-CoA carboxilasa, y glicerol fosfato aciltransferasa, lo que refuerza los efectos de la captación aumentada de glucosa sobre el incremento de la síntesis de ácidos grasos y acilglicerol. Estas tres enzimas están reguladas de una manera coordinada por mecanismos de fosforilación-desfosforilación (capítulos 17, 23 y 24).

Una de las acciones principales de la insulina en el tejido adiposo consiste en inhibir la actividad de **lipasa sensible a hormona,** lo que disminuye la liberación no sólo de FFA sino también de glicerol. El tejido adiposo es considerablemente más sensible a la insulina que muchos otros tejidos, lo cual apunta al tejido adiposo como un sitio importante de acción de la insulina *in vivo*.

Varias hormonas promueven la lipólisis

Otras hormonas aceleran la liberación de FFA desde el tejido adiposo, e incrementan las cifras plasmáticas de FFA al aumentar el índice de lipólisis de las reservas de triacilglicerol (**figura 25-8**); incluyen **epinefrina**, **norepinefrina**, **glucagón**, **hormona adrenocorticotrópica (ACTH)**, **hormonas estimulantes de melanocitos (MSH) α y β**, **hormona estimulante de la tiroides**

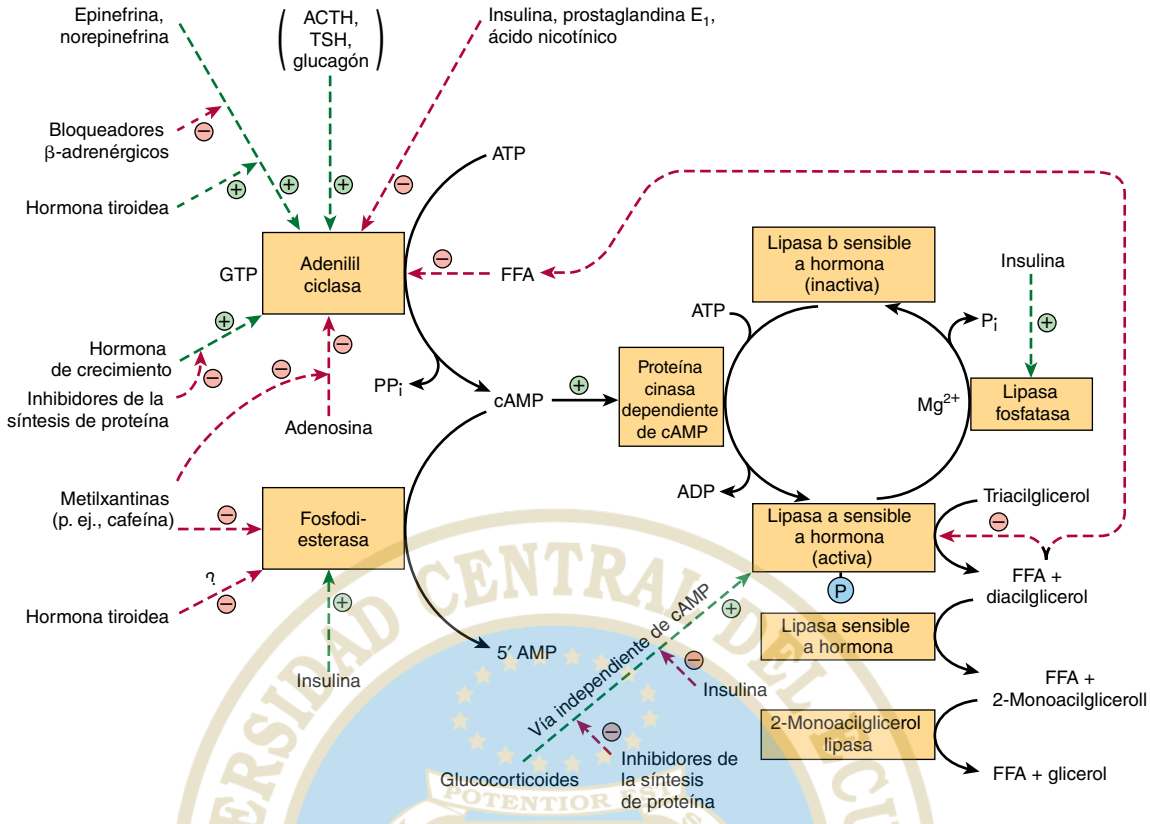


FIGURA 25-8 **Control de la lipólisis de tejido adiposo.** (TSH, hormona estimulante de la tiroides; FFA, ácidos grasos libres.) Note la secuencia de reacciones en cascada que permiten la amplificación en cada paso. El estímulo lipolítico se "desactiva" por eliminación de la hormona estimulante; la acción de la lipasa fosfatasa; la inhibición de la lipasa y la adenilil ciclasa por concentraciones altas de FFA; la inhibición de la adenilil ciclasa por la adenosina, y la eliminación de cAMP por la acción de la fosfodiesterasa. La ACTH, la TSH y el glucagón tal vez no activen la adenilil ciclasa *in vivo*, dado que las cifras de cada hormona requerida *in vitro* son considerablemente mayores que las que se encuentran en la circulación. Los efectos reguladores positivo (⊕) y negativo (⊖) están representados por líneas discontinuas y el flujo de sustrato por líneas continuas.

(TSH), **hormona de crecimiento (GH)** y **vasopresina**. Muchas de éstas activan a la lipasa sensible a hormona. Para que el efecto sea óptimo, casi todos estos procesos lipolíticos necesitan la presencia de **glucocorticoides** y **hormonas tiroideas**. Estas hormonas actúan en una calidad **facilitadora** o **permisiva** en lo que se refiere a otros factores endocrinos lipolíticos.

Las hormonas que actúan con rapidez en la promoción de la lipólisis, esto es, las catecolaminas (epinefrina y norepinefrina), lo hacen al estimular la actividad de la **adenilil ciclasa (adenilato ciclasa)**, la enzima que convierte el ATP en cAMP. El mecanismo es análogo al que se encarga de la estimulación hormonal de la glucogenólisis (capítulo 18). El cAMP, al estimular la **proteína cinasa dependiente de cAMP**, activa a la lipasa sensible a hormona. De este modo, los procesos que destruyen el cAMP o que lo preservan influyen sobre la lipólisis. El cAMP se degrada hacia 5′-AMP por la enzima **3′,5′-nucleótido fosfodiesterasa cíclica**; esta enzima es inhibida por metilxantinas como **cafeína** y **teofilina**. La **insulina** antagoniza el efecto de las hormonas lipolíticas. La lipólisis parece ser más sensible a cambios de la concentración de insulina que la utilización de glucosa y la esterificación. Los efectos antilipolíticos de la insulina, el ácido nicotínico y la prostaglandina E_1 se explican por inhibición de la síntesis de cAMP en el sitio de la adenilil ciclasa, actuando por medio de una proteína G_i. La insulina también estimula a la fosfodiesterasa y la lipasa fosfatasa que desactiva a la lipasa sensible a hormona. El efecto de la GH en la promoción de la lipólisis depende de la síntesis de proteínas involucradas en la formación de cAMP. Los glucocorticoides promueven la lipólisis mediante la síntesis de nueva proteína lipasa por medio de una vía independiente de cAMP, que puede ser inhibida por la insulina, y al promover la transcripción de genes comprendidos en la cascada de señales del cAMP. Estos datos ayudan a explicar la participación de la hipófisis y de la corteza suprarrenal en el aumento de la movilización de grasa. El sistema nervioso simpático, mediante liberación de norepinefrina en el tejido adiposo, tiene una participación fundamental en la movilización de FFA. De esta manera, el incremento de la lipólisis que se produce por muchos de los factores antes descritos se puede reducir o suprimir por desnervación del tejido adiposo o por bloqueo ganglionar.

La perilipina regula el equilibrio entre almacenamiento y lipólisis de triacilglicerol en adipocitos

La **perilipina**, una proteína comprendida en la formación de gotitas de lípido en adipocitos, inhibe la lipólisis en condiciones

basales al impedir el acceso de las enzimas lipasas a los triacilgliceroles almacenados. Con todo, en el momento de la estimulación con hormonas que promueven la degradación de triacilglicerol, la proteína dirige la lipasa sensible a hormona hacia la superficie de gotitas de lípido y, así, promueve la lipólisis. Por ende, la perilipina permite que el almacenamiento y la desintegración de triacilglicerol estén coordinados de acuerdo con las necesidades metabólicas del cuerpo.

El tejido adiposo de humanos quizá no sea un sitio importante de lipogénesis

En el tejido adiposo no hay incorporación importante de glucosa o piruvato hacia ácidos grasos de cadena larga; la ATP-citrato liasa, una enzima clave en la lipogénesis, no parece estar presente y otras enzimas lipogénicas —por ejemplo, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la enzima málica— no pasan por cambios adaptativos. De hecho, se ha sugerido que en seres humanos hay un **"síndrome de exceso de carbohidratos"** debido a una limitación singular de la capacidad para eliminar el exceso de carbohidrato por medio de lipogénesis. En aves, la lipogénesis está confinada al hígado, donde es en particular importante en el suministro de lípidos para la formación de huevos, estimulada por estrógenos.

EL TEJIDO ADIPOSO PARDO PROMUEVE LA TERMOGÉNESIS

El tejido adiposo pardo participa en el metabolismo, sobre todo en periodos en que se requiere generación de calor. De este modo, el tejido es en extremo activo en algunas especies, por ejemplo, durante el despertar que ocurre después de hibernación, en animales expuestos al frío (termogénesis sin tiritar o temblar) y en la producción de calor en el animal recién nacido. Aun cuando no es un tejido prominente en humanos, está presente en sujetos normales, donde podría ser la causa de **"termogénesis inducida por la dieta"**. Cabe hacer notar que el tejido adiposo pardo está reducido o no se encuentra en personas obesas. El tejido se caracteriza por un riego sanguíneo bien desarrollado y un contenido alto de mitocondrias y citocromos, pero actividad baja de ATP sintasa. El hincapié metabólico se hace en la oxidación tanto de glucosa como de ácidos grasos. La **norepinefrina** liberada a partir de terminaciones nerviosas simpáticas tiene importancia en el aumento de la lipólisis en el tejido y de la síntesis de lipoproteína lipasa para incrementar la utilización de lipoproteínas ricas en triacilglicerol desde la circulación. La oxidación y fosforilación no están acopladas en las mitocondrias de este tejido, y la fosforilación que ocurre es en el ámbito de sustrato, por ejemplo, en el paso de la succinato tiocinasa y en la glucólisis. De esta manera, la **oxidación produce mucho calor, y poca energía libre es atrapada en forma de ATP**. Una proteína desacopladora termógena, la **termogenina**, actúa como una vía de conductancia de protón que disipa el potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial (**figura 25-9**).

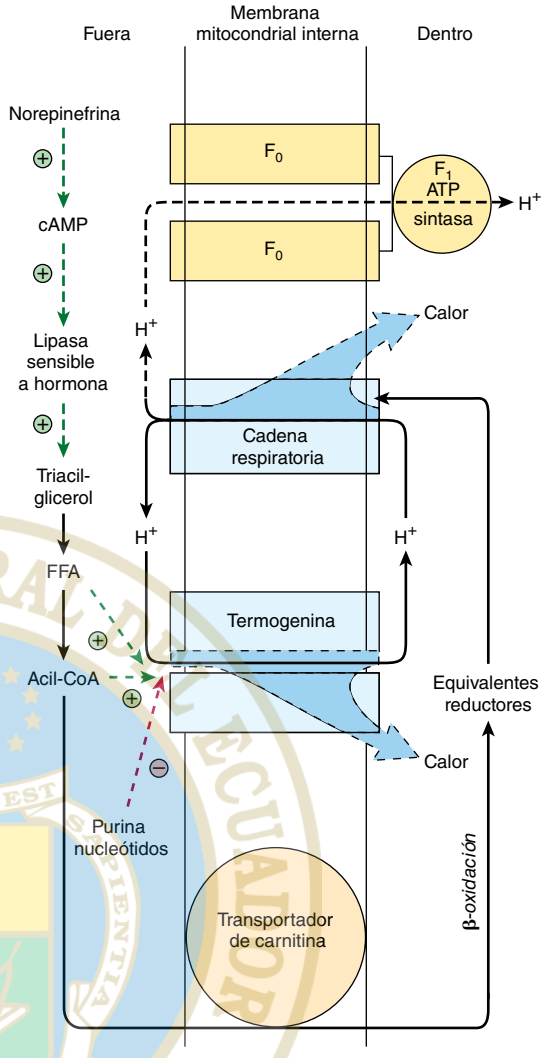


FIGURA 25-9 Termogénesis en el tejido adiposo pardo. La actividad de la cadena respiratoria produce calor además de translocar protones (capítulo 13). Estos protones disipan más calor cuando son regresados hacia el compartimiento mitocondrial interno mediante la termogenina en lugar de por medio de la F_1 ATP sintasa, la ruta que genera ATP (figura 13-7). El paso de H^+ mediante la termogenina es inhibido por purina nucleótidos cuando el tejido adiposo pardo no está estimulado. Bajo la influencia de la norepinefrina, la inhibición se elimina por la producción de FFA y acil-CoA. Note la función doble de la acil-CoA tanto en la facilitación de la acción de la termogenina como en el suministro de equivalentes reductores para la cadena respiratoria. ⊕ y ⊖ significan efecto regulador positivo o negativo.

RESUMEN

- Dado que los lípidos no polares son insolubles en agua, para transporte entre los tejidos en el plasma sanguíneo acuoso se combinan con lípidos y proteínas anfipáticos para hacer lipoproteínas miscibles en agua.
- Se reconocen cuatro grupos principales de lipoproteínas: los quilomicrones transportan lípidos que se producen por la digestión y la absorción. Las VLDL transportan triacilglicerol desde el hígado; las LDL llevan colesterol a los tejidos y las HDL eliminan colesterol de los tejidos y lo regresan al hígado para excreción en el proceso conocido como transporte inverso de colesterol.
- Los quilomicrones y la VLDL se metabolizan mediante hidrólisis de su triacilglicerol, y quedan remanentes de lipoproteína en la circulación, los cuales son captados por el hígado, pero algunos de los remanentes (IDL) originados a partir de VLDL forman

LDL, que es captada por el hígado y otros tejidos por medio del receptor de LDL.

- Las apolipoproteínas constituyen la porción proteína de lipoproteínas. Actúan como activadores de enzima (p. ej., apo C-II y apo A-I) o como ligandos para receptores celulares (p. ej., apo A-I, apo E y apo B-100).
- El triacilglicerol es el principal lípido de almacenamiento en el tejido adiposo. En el momento de la movilización, se liberan FFA y glicerol. Los FFA son una importante fuente de combustible.
- El tejido adiposo pardo es el sitio de "termogénesis sin tiritar o temblar". Se encuentra en animales en hibernación y recién nacidos, y está presente en pequeña cantidad en humanos. La termogénesis se produce por la presencia de una proteína desacopladora, la termogenina, en la membrana mitocondrial interna.

REFERENCIAS

Arner P: Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2005;19:471.

Brasaemle DL: Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. J Lipid Res 2007;48:2547.

Fielding CJ, Fielding PE: Dynamics of lipoprotein transport in the circulatory system. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;533-554.

Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR: Adipose tissue as an endocrine organ. Mol Cell Endocrinol 2010;316:129.

Goldberg IJ, Merkel M: Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry and molecular biology. Front Biosci 2001;6:D388.

Lass A, Zimmermann R, Oberer M, *et al*: Lipolysis—a highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores. Prog Lipid Res 2011;50:14.

Lenz A, Diamond FB: Obesity: the hormonal milieu. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 2008;15:9.

Redgrave TG: Chylomicron metabolism. Biochem Soc Trans 2004;32:79.

Schreuder TC, Verwer BJ, Van Nieuwkerk CM, *et al*: Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment. World J Gastroenterol 2008;14:2474.

Schulz TJ, Tseng YH: Brown adipose tissue, development, metabolism and beyond. Biochem J 2013;453:167.

Vance JE, Adeli K: Assembly and secretion of triacylglycerol-rich lipoproteins. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;507-532.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 26

Síntesis, transporte y excreción de colesterol

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar la importancia del colesterol como un componente estructural esencial de las membranas celulares, y como un precursor de todos los otros esteroides en el organismo, e indicar su papel patológico en la enfermedad por cálculos biliares de colesterol y la aparición de aterosclerosis.
- Identificar las cinco etapas en la biosíntesis de colesterol a partir de la acetil-CoA.
- Entender el papel de la 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) en el control de la tasa de síntesis de colesterol y explicar los mecanismos mediante los cuales se regula su actividad.
- Apreciar que el equilibrio de colesterol en las células está estrechamente regulado, e indicar los factores involucrados en el mantenimiento del equilibrio correcto.
- Explicar el papel de las lipoproteínas plasmáticas, incluso quilomicrones, lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), y lipoproteína de alta densidad (HDL) en el transporte de colesterol entre los tejidos y el plasma.
- Nombrar los dos principales ácidos biliares primarios que se encuentran en mamíferos, esbozar las vías mediante las cuales se sintetizan a partir del colesterol en el hígado, y entender el papel de la colesterol 7α-hidroxilasa en la regulación del proceso.
- Apreciar la importancia de la síntesis de ácidos biliares no sólo en la digestión de grasas y la absorción de las mismas, sino también como una ruta excretora importante para el colesterol.
- Indicar de qué modo las bacterias intestinales producen ácidos biliares secundarios a partir de ácidos biliares primarios.
- Explicar qué significa "circulación enterohepática" y por qué es importante.
- Identificar los factores del estilo de vida que influyen sobre la concentración plasmática de colesterol y que, así, afectan el riesgo de cardiopatía coronaria.
- Entender que la clase de lipoproteína en la cual se transporta el colesterol tiene importancia en la determinación de los efectos del colesterol plasmático sobre la aparición de aterosclerosis; la concentración alta de VLDL o de LDL es perjudicial, y las cifras altas de HDL son beneficiosas.
- Dar ejemplos de enfermedades hereditarias y no hereditarias que afectan el metabolismo de lipoproteína y causan hipolipoproteinemia o hiperlipoproteinemia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El **colesterol** está presente en los tejidos y en el plasma, sea como colesterol libre o combinado con un ácido graso de cadena larga como éster de colesterol, la forma de almacenamiento. En el plasma, ambas formas se transportan en lipoproteínas (capítulo 25). El colesterol es un lípido anfipático y, como tal, es un componente estructural esencial de las membranas, donde es importante para el mantenimiento de la permeabilidad y fluidez correctas, y de la capa externa de las lipoproteínas plasmáticas. Se sintetiza en muchos tejidos a partir de la acetil-CoA, y es el precursor de todos los otros esteroides en el organismo, incluso corticosteroides, hormonas sexuales, ácidos biliares y vitamina D. Como un producto típico del metabolismo en animales, el colesterol se encuentra en alimentos de origen animal, como yema de huevo, carne, hígado y cerebro. La **lipoproteína de baja densidad (LDL)** plasmática es el vehículo que aporta colesterol y éster de colesterol hacia muchos tejidos. El colesterol libre se elimina de los tejidos por medio de la **lipoproteína de alta densidad (HDL)** plasmática, y se transporta hacia el hígado, donde se elimina del cuerpo, sea sin cambios o después de conversión en ácidos biliares en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (capítulo 25). El colesterol es un constituyente importante de los **cálculos biliares**. Sin embargo, su principal participación en procesos patológicos es como un factor en la génesis de **ateroesclerosis** de arterias vitales, lo que da por resultado enfermedad cerebrovascular, coronaria y vascular periférica.

EL COLESTEROL ES BIOSINTETIZADO POR ACETIL-CoA

Poco más de la mitad del colesterol del cuerpo surge por síntesis (alrededor de 700 mg/día), y el resto proviene de la dieta promedio. El hígado y el intestino dan cuenta de cerca de 10% cada uno de la síntesis total en humanos. Casi todos los tejidos que contienen células nucleadas tienen la capacidad de síntesis de colesterol, la cual ocurre en el retículo endoplásmico y los compartimientos citosólicos.

La acetil-CoA es la fuente de todos los átomos de carbono en el colesterol

El colesterol es un compuesto de 27 carbonos que consta de cuatro anillos y una cadena lateral (figura 21-20). Se sintetiza a partir de acetil-CoA mediante una vía larga que puede dividirse en cinco pasos: 1) síntesis de **mevalonato** a partir de acetil-CoA (**figura 26-1**); 2) formación de **unidades de isoprenoide** a partir del mevalonato por pérdida de CO_2 (**figura 26-2**); 3) la condensación de seis unidades de isoprenoide forma **escualeno** (figura 26-2); 4) la ciclización de escualeno da lugar al esteroide padre, **lanosterol;** 5) formación de colesterol a partir de lanosterol (**figura 26-3**).

Paso 1. Biosíntesis de mevalonato: la HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA) se forma por las reacciones que se usan en las mitocondrias para sintetizar cuerpos cetónicos (figura 22-7). Empero, dado que la síntesis de colesterol es extramitocondrial, las dos vías son diferentes. Al principio, dos moléculas de acetil-CoA se condensan para formar acetoacetil-CoA, lo cual es catalizado

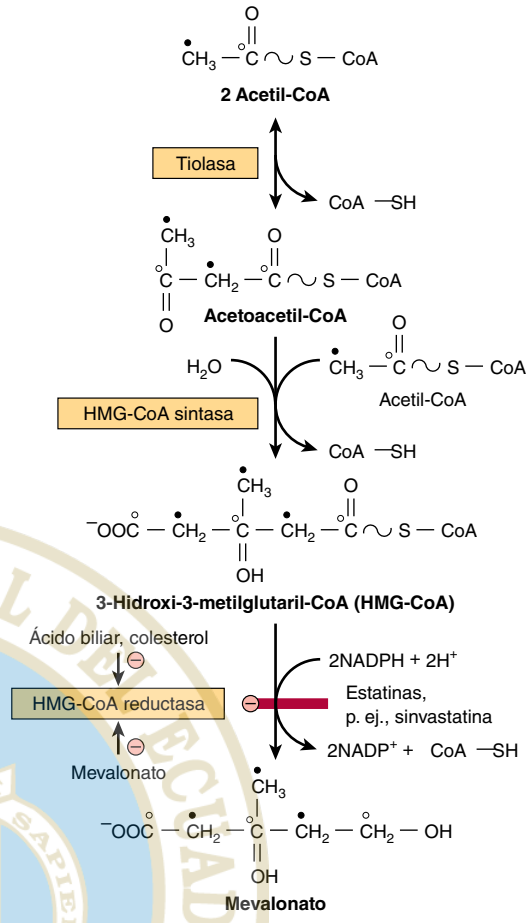


FIGURA 26-1 Biosíntesis de mevalonato. Las estatinas inhiben la HMG-CoA reductasa. Los círculos blancos y negros indican el destino de cada uno de los carbonos en la porción acetilo de la acetil-CoA.

por la **tiolasa** citosólica. La acetoacetil-CoA se condensa con otra molécula de acetil-CoA, paso catalizado por la **HMG-CoA sintasa**, para formar HMG-CoA, a la cual el NADPH reduce a **mevalonato**, reacción catalizada por la **HMG-CoA reductasa**. Éste es el principal paso regulador en la vía de la síntesis de colesterol, y es el sitio de acción de la clase más eficaz de fármacos que disminuyen el colesterol, las estatinas, que son inhibidores de la HMG-CoA reductasa (figura 26-1).

Paso 2. Formación de unidades isoprenoides: el ATP fosforila de modo secuencial el mevalonato mediante tres cinasas y, luego de descarboxilación (figura 26-2), se forma la unidad isoprenoide activa, el **isopentenil difosfato**.

Paso 3. Seis unidades isoprenoides forman escualeno: el isopentenil difosfato es isomerizado por medio de un desplazamiento del doble enlace para formar **dimetilalil difosfato,** que después se condensa con otra molécula de isopentenil difosfato para formar el intermediario de 10 carbonos **geranil difosfato** (figura 26-2). Una condensación adicional con isopentenil difosfato forma **farnesil difosfato**. Dos moléculas de este último se condensan en el extremo difosfato para formar el **escualeno**. En un inicio se elimina el pirofosfato inorgánico, lo cual forma prescualeno difosfato, que luego se reduce mediante NADPH con eliminación de una molécula de pirofosfato inorgánico adicional.

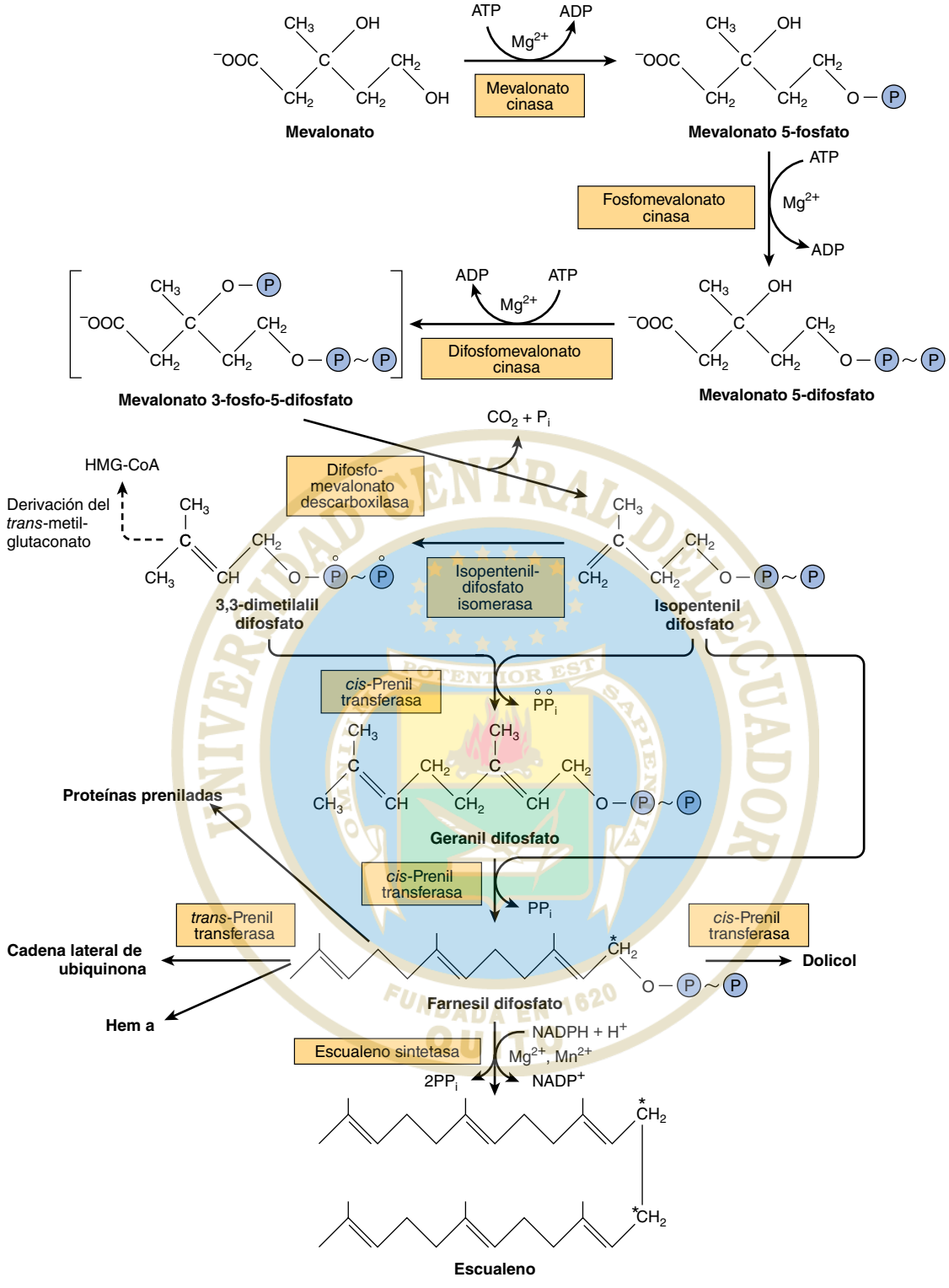


FIGURA 26-2 **Biosíntesis de escualeno, ubiquinona, dolicol y otros derivados poliisopreno.** (HMG-CoA, 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA). Hay un residuo farnesilo en el hem a de la citocromo oxidasa. El carbono marcado con un asterisco se convierte en C_{11} o C_{12} en el escualeno. La escualeno sintetasa es una enzima microsómica; todas las otras enzimas indicadas son proteínas citosólicas solubles y algunas se encuentran en peroxisomas.

Paso 4. Formación de lanosterol: el escualeno puede plegarse hacia una estructura que semeja de manera estrecha el núcleo esteroide (figura 26-3). Antes de que se cierre el anillo, una oxidasa de función mixta en el retículo endoplásmico, la **escualeno epoxidasa**, convierte al escualeno en escualeno 2,3-epóxido. El grupo metilo en el C_{14} se transfiere hacia C_{13} y el grupo metilo en C_8 se transfiere a C_{14} conforme sucede ciclización, lo cual es catalizado por la **oxidoescualeno:lanosterol ciclasa**.

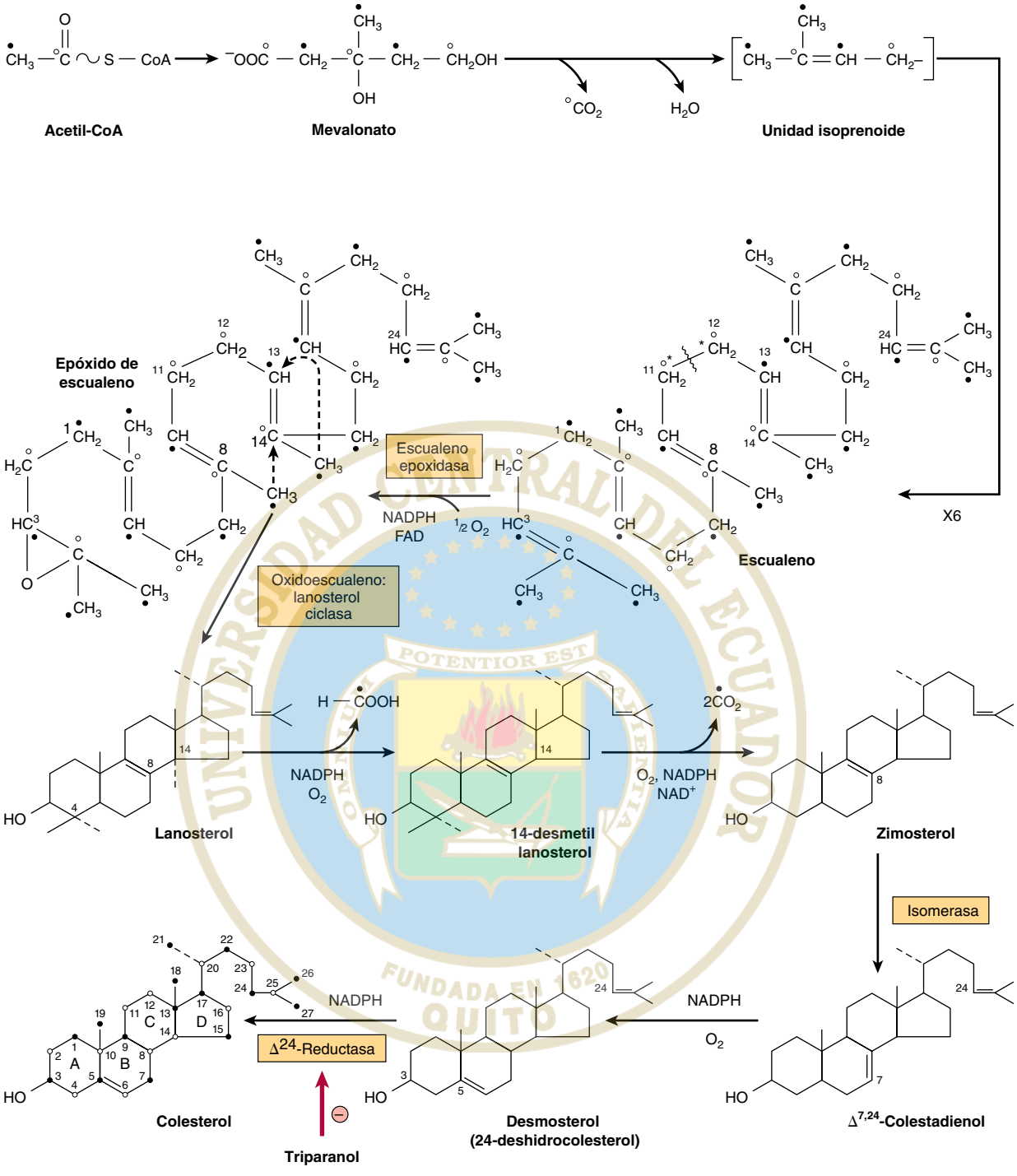


FIGURA 26-3 **Biosíntesis de colesterol.** Las posiciones numeradas son las del núcleo esteroide, y los círculos blancos y negros indican el destino de cada uno de los carbonos en la porción acetilo de la acetil-CoA. (*Véase el marcado del escualeno en la figura 26-2).

Paso 5. Formación de colesterol: la formación de colesterol a partir de **lanosterol** tiene lugar en las membranas del retículo endoplásmico, e incluye cambios en el núcleo y la cadena lateral esteroides (figura 26-3). Los grupos metilo en C_{14} y C_4 se eliminan para formar 14-desmetil lanosterol y después zimosterol. El doble enlace en C_8-C_9 luego se mueve hacia C_5-C_6 en dos pasos, lo que forma **desmosterol**. Por último, el doble enlace de la cadena lateral se reduce, lo que genera colesterol.

El farnesil difosfato da lugar a dolicol y ubiquinona

Los poliisoprenoides **dolicol** (figura 21-23 y capítulo 46) y **ubiquinona** (figura 13-6) se forman a partir del farnesil difosfato por medio de la adición de hasta 16 (dolicol) o 3 a 7 (ubiquinona) residuos isopentenil difosfato (figura 26-2). Algunas **proteínas de unión a GTP** en la membrana celular están preniladas con residuos

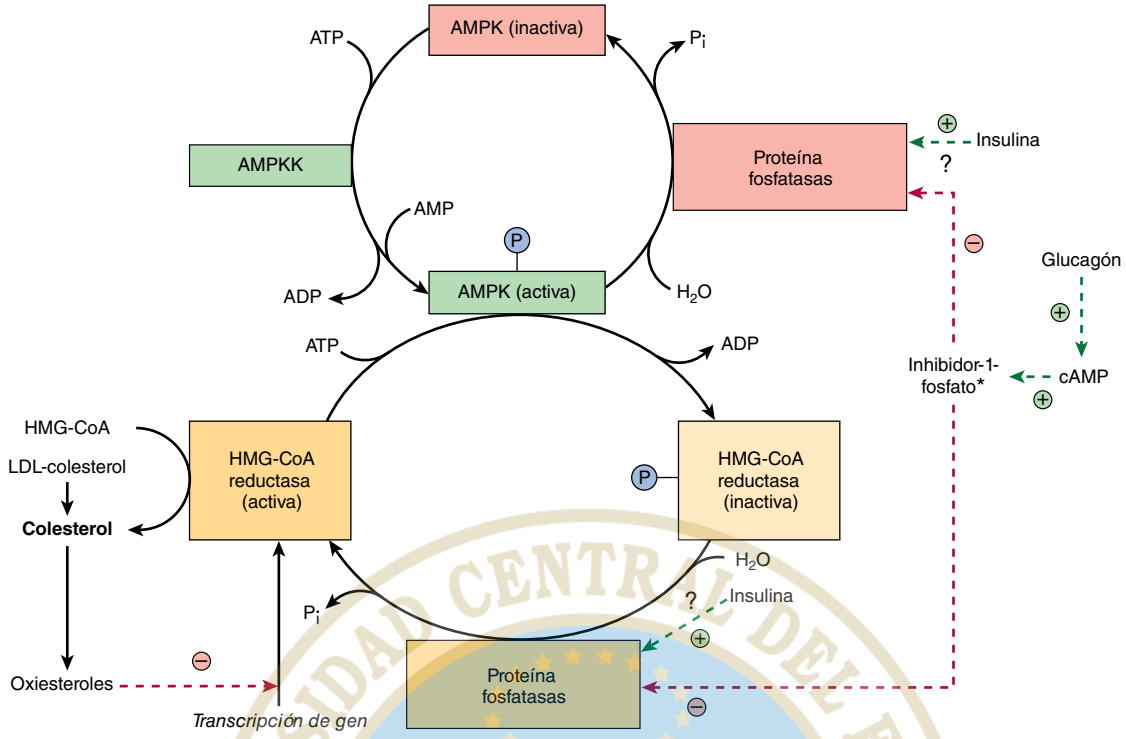


FIGURA 26-4 Posibles mecanismos en la regulación de la síntesis de colesterol por la HMG-CoA reductasa. La insulina tiene un papel dominante en comparación con el glucagón. (AMPK, proteína cinasa activada por AMP; AMPKK, proteína cinasa cinasa activada por AMP). * Vea la figura 18-6.

farnesil o geranilgeranil (20 carbonos). Se cree que la **prenilación de proteína** facilita la fijación de proteínas en membranas lipoides, y quizá también participe en interacciones entre una proteína y otra, y en el tráfico de proteína relacionado con membrana.

LA REGULACIÓN DE LA HMG-COA REDUCTASA CONTROLA LA SÍNTESIS DE COLESTEROL

La síntesis de colesterol se regula cerca del principio de la vía, en el paso de la HMG-CoA reductasa. La síntesis reducida de colesterol en animales en inanición se acompaña de un decremento de la actividad de la enzima. Sin embargo, el colesterol de la dieta sólo inhibe la síntesis hepática. La HMG-CoA reductasa en el hígado es inhibida por el mevalonato, el producto intermedio de la reacción, y por el colesterol, el principal producto de la vía. El colesterol y los metabolitos reprimen la transcripción de la HMG-CoA reductasa mediante activación de un factor de transcripción **proteína de unión a elemento regulador esterol (SREBP)**. Las SREBP son una familia de proteínas que regulan la transcripción de una gama de genes comprendidos en la captación y el metabolismo celulares de colesterol y otros lípidos. La activación de SREBP es inhibida por **Insig** (gen inducido por insulina), una proteína cuya expresión, como su nombre lo indica, es inducida por la insulina y está presente en el retículo endoplasmático. La Insig también promueve la degradación de HMG-CoA reductasa. Ocurre una **variación diurna** de la síntesis de colesterol y la actividad de reductasa. Además de estos mecanismos que regulan el índice de síntesis de proteína, la modificación postraduccional también modula con mayor rapidez la actividad enzimática (**figura 26-4**). La **insulina o** la **hormona tiroidea** aumenta la actividad de la HMG-CoA reductasa, mientras que el **glucagón** o los **glucocorticoides** la aminoran. Mecanismos de fosforilación-desfosforilación modifican de modo reversible la actividad; algunos de estos mecanismos pueden ser dependientes de cAMP y, en consecuencia, tienen capacidad de respuesta inmediata al glucagón. La **proteína cinasa activada por AMP (AMPK)** (antes llamada HM-CoA reductasa cinasa) fosforila la HMG-CoA reductasa, y la desactiva. La AMPK es activada por medio de fosforilación por la **AMPK cinasa (AMPKK)** y modificación alostérica por ANP. Los intentos por disminuir el colesterol plasmático en humanos al reducir la cantidad de colesterol en la dieta producen resultados variables. En general, un decremento de 100 mg del colesterol de la dieta origina una aminoración de alrededor de 0.13 mmol/L de suero.

MUCHOS FACTORES INFLUYEN SOBRE EL EQUILIBRIO DE COLESTEROL EN LOS TEJIDOS

En los tejidos, el equilibrio del colesterol se regula como sigue (**figura 26-5**): el incremento de colesterol en las células se debe a la captación de lipoproteínas que contienen colesterol por receptores, por ejemplo, el receptor de LDL o el receptor recolector, captación de colesterol libre desde lipoproteínas con alto contenido de colesterol hacia la membrana celular, la síntesis de colesterol, e hidrólisis de ésteres de colesterol por la enzima **éster de colesterol hidrolasa**. La disminución se debe a flujo de salida de

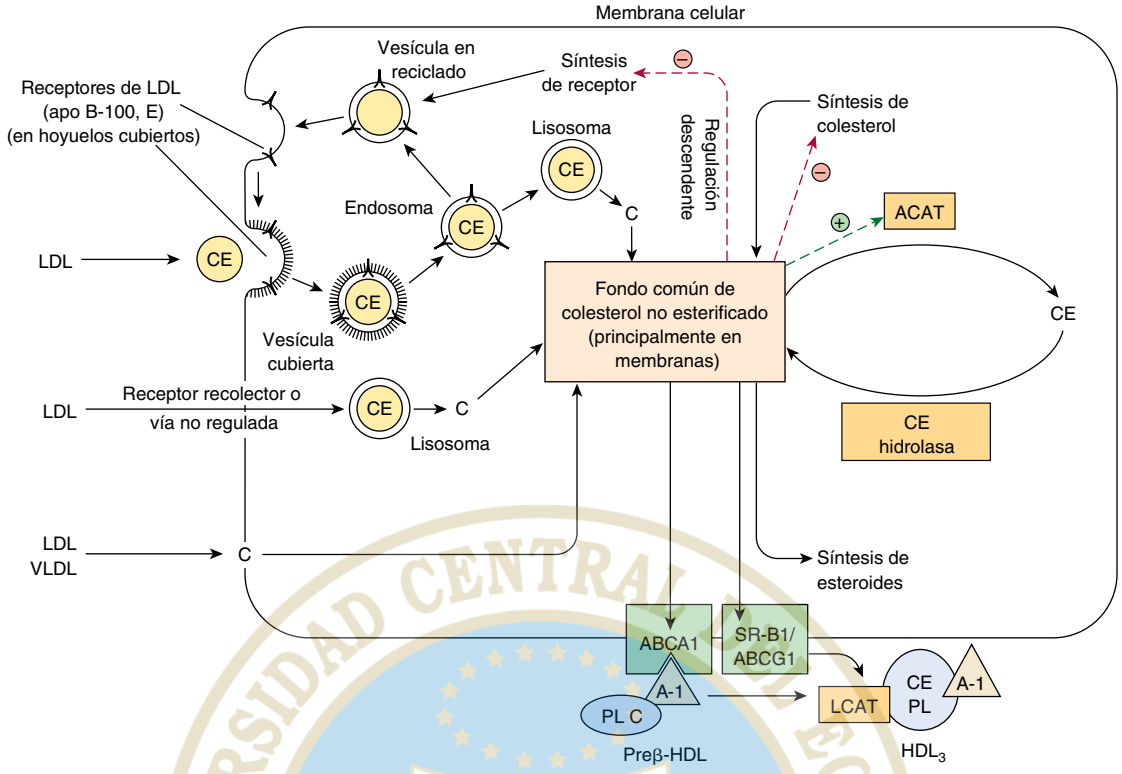


FIGURA 26-5 **Factores que afectan el equilibrio de colesterol en el ámbito celular.** El transporte inverso de colesterol puede estar mediado mediante la proteína transportadora ABCA-1 (con preβ-HDL como el aceptor exógeno) o el SR-B1 o ABCG-1 (con HDL_3 como el aceptor exógeno). (A-I, apolipoproteína A-I; ACAT, acil-CoA:colesterol aciltransferasa; C, colesterol; CE, éster de colesterol; LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; LDL, lipoproteína de baja densidad; PL, fosfolípido; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad). La LDL y HDL no se muestran a escala.

colesterol desde la membrana hacia HDL por medio de ABCA1, ABCG1 o SR-B1 (figura 25-5). La esterificación de colesterol por **ACAT** (acil-CoA:colesterol aciltransferasa), y utilización de colesterol para la síntesis de otros esteroides, como hormonas, o ácidos biliares en el hígado.

El receptor de LDL está muy regulado

Los receptores de LDL (apo B-100, E) existen sobre la superficie celular en hoyuelos que están cubiertos sobre el lado citosólico de la membrana celular con una proteína denominada **clatrina**. El receptor de glucoproteína abarca la membrana; la región de unión B-100 está en el extremo amino terminal expuesto. Después de unión, la LDL es captada intacta mediante endocitosis. La apoproteína y el éster de colesterol a continuación se hidrolizan en los lisosomas, y el colesterol se transloca hacia la célula. Los receptores se reciclan hacia la superficie celular. Este flujo hacia adentro de colesterol inhibe la transcripción de los genes que codifican para la HMG-CoA sintasa, la HMG-CoA reductasa y otras enzimas involucradas en la síntesis de colesterol, así como el receptor de LDL en sí, por medio de la vía de la SREBP y, así, de manera coordinada suprime la síntesis y captación de colesterol. Además, la actividad de la ACAT se estimula, lo que promueve la esterificación de colesterol. Además, la actividad de ACAT es estimulada, lo cual promueve la esterificación de colesterol. Además, investigación reciente ha mostrado que la proteína **proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9)** regula el reciclado del receptor a la superficie celular al establecerlo como objetivo para degradación. Mediante estos mecanismos, la actividad del receptor de LDL sobre la superficie celular es regulada por el requerimiento de colesterol para membranas, hormonas esteroides, o síntesis de ácidos biliares, y el contenido de colesterol libre de la célula se mantiene dentro de límites relativamente estrechos (figura 26-5).

EL COLESTEROL SE TRANSPORTA ENTRE TEJIDOS EN LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

El colesterol se transporta en el plasma en lipoproteínas; la mayor parte en forma de éster de colesterol (**figura 26-6**) y en seres humanos la proporción más alta se encuentra en la LDL. El colesterol en la dieta se equilibra con el colesterol plasmático en días y con el colesterol hístico en semanas. El éster de colesterol en la dieta se hidroliza hacia colesterol, que a continuación se absorbe en el intestino junto con el colesterol no esterificado y otros lípidos de la dieta. Con el colesterol que se sintetiza en los intestinos, a continuación se incorpora hacia quilomicrones (capítulo 25). Del colesterol absorbido, 80 a 90% se esterifica con ácidos grasos de cadena larga en la mucosa intestinal. Del colesterol de quilomicrón, 95% se lleva al hígado en remanentes de quilomicrón, y

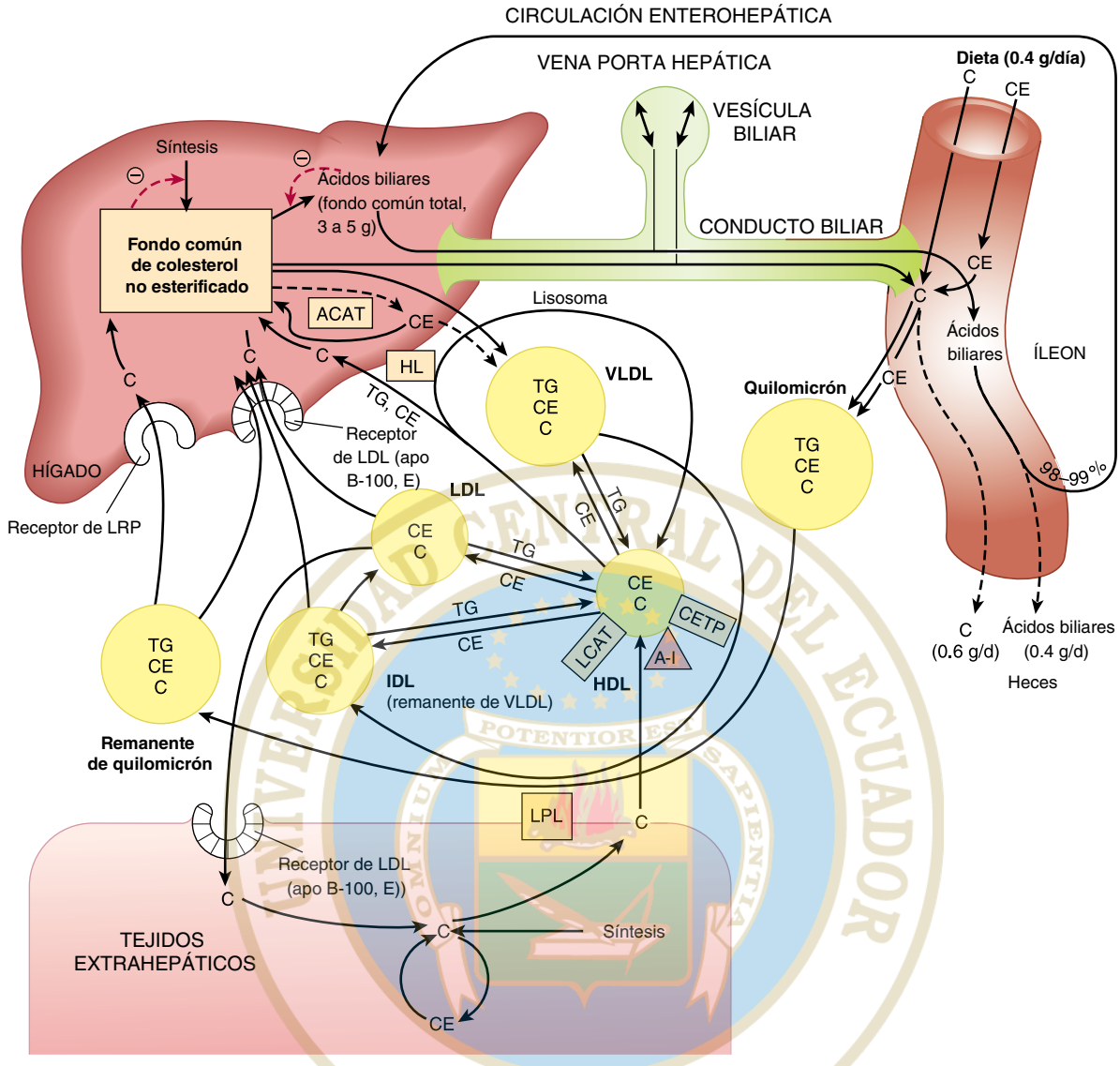


FIGURA 26-6 Transporte de colesterol entre los tejidos en humanos. (ACAT, acil-CoA:colesterol aciltransferasa; A-I, apolipoproteína A-I; C, colesterol no esterificado; CE, éster de colesterol; CETP, proteína de transferencia de éster de colesterol; HDL, lipoproteína de alta densidad; HL, lipasa hepática; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; LDL, lipoproteína de baja densidad; LPL, lipoproteína lipasa; LRP, proteína relacionada con el receptor de LDL; TG, triacilglicerol; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad).

la mayor parte del colesterol secretado por el hígado en lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) se retiene durante la formación de lipoproteína de densidad intermedia (IDL) y por último de LDL, que es captada por el receptor de LDL en el hígado y los tejidos extrahepáticos (capítulo 25).

Casi todo el éster de colesterol plasmático en humanos depende de la LCAT plasmática

La actividad de la **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)** se relaciona con HDL que contiene apo A-I. A medida que el colesterol en HDL se esterifica, crea un gradiente de concentración e introduce colesterol desde los tejidos y desde otras lipoproteínas (figuras 26-5 y 26-6), lo que permite al HDL funcionar en el **transporte inverso de colesterol** (figura 25-5).

La proteína de transferencia de éster de colesterol facilita la transferencia de este último desde HDL hacia otras lipoproteínas

La **proteína de transferencia de éster de colesterol**, relacionada con HDL, se encuentra en el plasma de humanos y muchas otras especies. Facilita la transferencia de éster de colesterol desde HDL hacia VLDL, IDL y LDL en intercambio por triacilglicerol, lo que alivia la inhibición por producto de la actividad de LCAT en HDL. De esta manera, en humanos, gran parte del éster de colesterol formado por LCAT encuentra su camino hacia el hígado mediante remanentes de VLDL (IDL) o LDL (figura 26-6). La HDL_2 enriquecida con triacilglicerol, lleva su colesterol hacia el hígado en el ciclo de la HDL (figura 25-5).

EL COLESTEROL SE EXCRETA DESDE EL CUERPO EN LA BILIS COMO COLESTEROL O ÁCIDOS (SALES) BILIARES

El colesterol se excreta del organismo por medio de la bilis sea en forma no esterificada o luego de conversión en ácidos biliares en el hígado. El **coprostanol** es el principal esterol en las heces; las bacterias lo forman a partir del colesterol en la parte baja del intestino.

Los ácidos biliares se forman a partir de colesterol

Los **ácidos biliares primarios** se sintetizan en el hígado a partir de colesterol, se trata del **ácido cólico** (que se encuentra en grandes cantidades en la mayoría de los mamíferos) y el **ácido quenodesoxicólico** (**figura 26-7**). La 7α-hidroxilación de colesterol es el primer y principal paso regulador en la biosíntesis de ácidos biliares, y es catalizada por la **colesterol 7α-hidroxilasa**, una enzima P450 citocromo microsomal (capítulo 12) llamada **CYP7A1**. Una monooxigenasa típica, requiere oxígeno, NADPH y citocromo P450. Los pasos de hidroxilación subsiguientes también son catalizados por monooxigenasas. La vía de la biosíntesis de ácido biliar se divide en etapas tempranas hacia una subvía que lleva a **colil-CoA**, caracterizada por un grupo α-OH extra en la posición 12 y otra vía que lleva a **quenodesoxicolil-CoA** (figura 26-7). Una segunda vía en las mitocondrias que comprende la 27-hidroxilación de colesterol por la **esterol 27-hidroxilasa (CYP27A1)** como el primer paso explica una proporción importante de los ácidos biliares primarios sintetizados. Los ácidos biliares primarios (figura 26-7) entran a la bilis como conjugados de glicina o taurina. La conjugación tiene lugar en peroxisomas hepáticos. En humanos, la proporción entre conjugados de

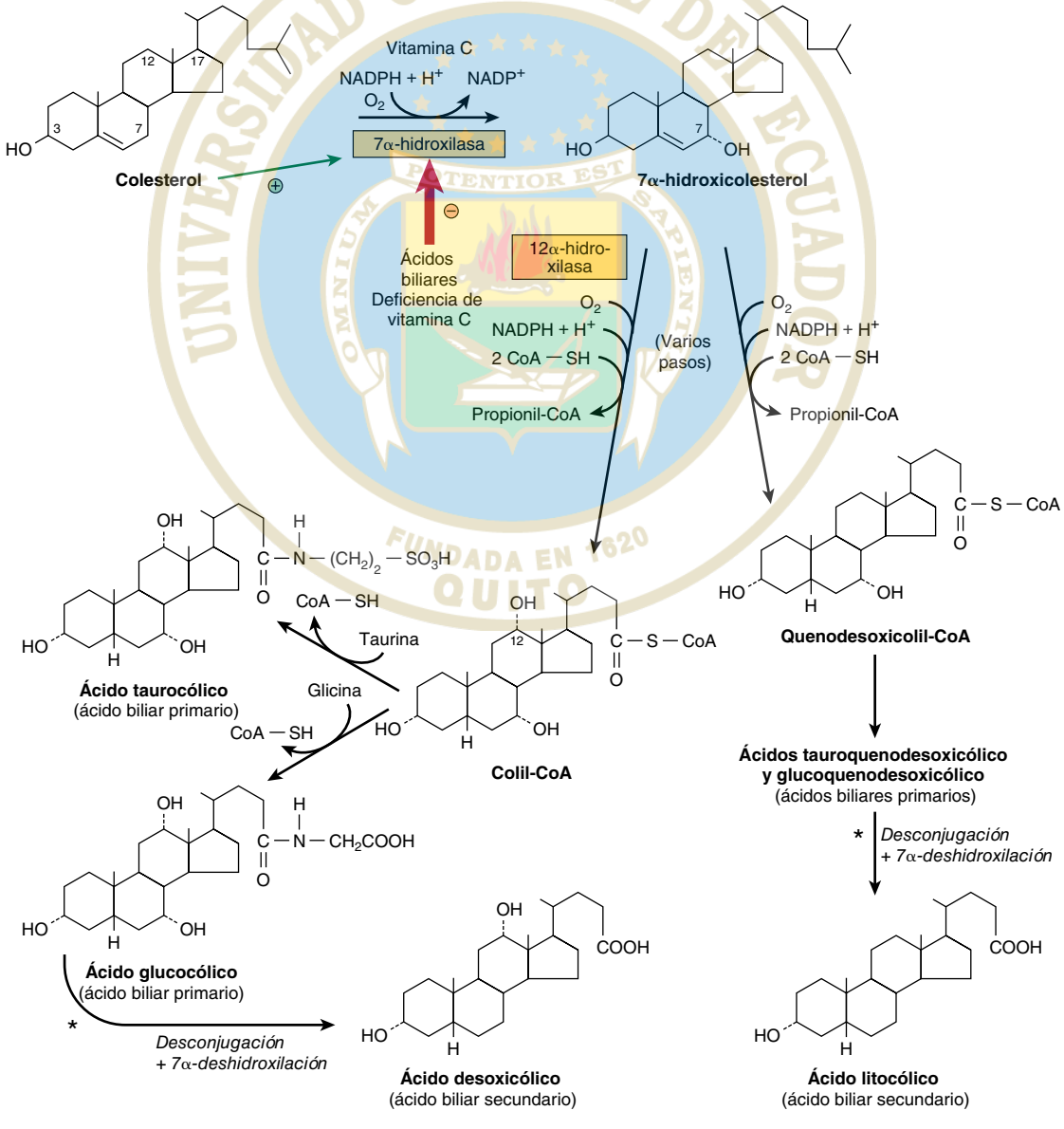


FIGURA 26-7 **Biosíntesis y degradación de ácidos biliares.** Una segunda vía en las mitocondrias comprende la hidroxilación de colesterol por la esterol 27-hidroxilasa. (*Catalizada por enzimas microbianas).

glicina y de taurina normalmente es de 3:1. En la bilis alcalina (pH de 7.6 a 8.4), se supone que los ácidos biliares y sus conjugados están en una forma de sal; de ahí el término "sales biliares".

Los ácidos biliares primarios se metabolizan más en el intestino mediante la actividad de las bacterias intestinales. Así, ocurren desconjugación y 7α-deshidroxilación, lo que produce los **ácidos biliares secundarios**, **ácido desoxicólico** y **ácido litocólico**.

Casi todos los ácidos biliares regresan al hígado en la circulación enterohepática

Aun cuando los productos de la digestión de grasa, incluso el colesterol, se absorben en los primeros 100 cm del intestino delgado, los ácidos biliares primarios y secundarios se absorben de modo casi exclusivo en el íleon, y 98 a 99% se regresa hacia el hígado por medio de la circulación porta. Esto se conoce como la **circulación enterohepática** (figura 26-6). Aun así, el ácido litocólico, debido a su insolubilidad, no se resorbe en un grado importante. Sólo una pequeña fracción de las sales biliares escapa a la absorción y, por ende, se elimina en las heces; esto representa una vía importante para la eliminación de colesterol. Cada día el pequeño fondo común de ácidos biliares (de 3 a 5 g) pasa 6 a 10 veces por un ciclo por el intestino, y una cantidad de ácido biliar equivalente a la que se pierde en las heces se sintetiza a partir de colesterol, de manera que se mantiene un fondo común de ácidos biliares de tamaño constante. Esto se logra mediante un sistema de controles por retroalimentación.

La síntesis de ácido biliar está regulada en el paso de la 7α-hidroxilasa

El principal paso limitante en la biosíntesis de ácidos biliares está en la **reacción de CYP7A1** (figura 26-7). La actividad de la enzima está regulada por retroalimentación por medio del receptor de unión a ácido biliar nuclear **receptor X farnesoide (FXR)**. Cuando aumenta el tamaño del fondo común de ácidos biliares en la circulación enterohepática, el FXR se activa, y se suprime la transcripción del gen que codifica para CYP7A1. El ácido quenodesoxicólico tiene especial importancia en la activación de FXR. La actividad de CYP7A1 también se incrementa por el colesterol de origen endógeno y de la dieta, y está regulada por insulina, glucagón, glucocorticoides y hormona tiroidea.

ASPECTOS CLÍNICOS

El colesterol sérico se correlaciona con la incidencia de aterosclerosis y cardiopatía coronaria

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria que se caracteriza por el depósito de colesterol y éster de colesterol provenientes de lipoproteínas plasmáticas en la pared arterial, y es una causa importante de cardiopatía. La concentración plasmática alta de colesterol (> 5.2 mmol/L) es uno de los factores más importantes en la promoción de la aterosclerosis, pero ahora se reconoce que el triacilglicerol también es un factor de riesgo independiente. Las enfermedades en las cuales hay incremento prolongado de las cifras de VLDL, IDL, remanentes de quilomicrón, o LDL en la sangre (p. ej., diabetes mellitus, nefrosis lípida, hipotiroidismo y otros estados de hiperlipidemia) suelen acompañarse de aterosclerosis prematura o más grave. También hay una relación inversa entre las concentraciones de HDL (HDL_2) y la cardiopatía coronaria, lo que hace que la **proporción de colesterol de LDL:HDL sea un buen parámetro predictivo**. Esto es congruente con la función de la HDL en el transporte inverso de colesterol. La susceptibilidad a aterosclerosis varía de manera significativa entre las especies, y los humanos son una de las pocas en las cuales la enfermedad se induce por dietas con alto contenido de colesterol.

La dieta puede tener importancia en la reducción del colesterol sérico

Los factores hereditarios tienen la función más importante en la determinación de las cifras de colesterol sérico individuales; de cualquier modo, también participan factores de la dieta y ambientales, y el más beneficioso de éstos es la sustitución de los ácidos grasos saturados en la dieta por **ácidos grasos poliinsaturados** y **monoinsaturados**. Los aceites vegetales, como el aceite de maíz y el aceite de semillas de girasol, contienen una proporción alta de ácidos grasos poliinsaturados, mientras que el aceite de oliva contiene una concentración alta de ácidos grasos monoinsaturados. Los ácidos grasos ω3 encontrados en el aceite de pescado también son benéficos (capítulo 21). Por otra parte, la grasa de la mantequilla, la grasa de la carne de res y el aceite de palma contienen una proporción alta de ácidos grasos saturados. La sacarosa y la fructosa tienen mayor efecto en el aumento de los lípidos en la sangre, en particular triacilgliceroles, que otros carbohidratos.

Uno de los mecanismos por los cuales los ácidos grasos insaturados disminuyen la concentración sanguínea de colesterol es mediante la regulación ascendente de receptores de LDL sobre la superficie celular por ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados en comparación con saturados, lo cual causa un incremento de la tasa catabólica de LDL, la principal lipoproteína aterogénica. Se cree que los ácidos grasos ω3 son protectores debido a sus efectos antiinflamatorio y de disminución del triacilglicerol. Más aún, los ácidos grasos saturados suscitan la formación de partículas de VLDL de menor tamaño que contienen relativamente más colesterol, así como los tejidos extrahepáticos, las utilizan a un índice más lento que las partículas de mayor tamaño, tendencias que pueden considerarse aterogénicas.

El estilo de vida afecta las cifras séricas de colesterol

Otros factores que se considera que participan en la cardiopatía coronaria son **presión arterial alta**, **tabaquismo**, **género masculino**, **obesidad (en especial obesidad abdominal)**, **falta de ejercicio** y **consumo de agua blanda en contraposición con dura**. Los factores relacionados con aumento de los FFA plasmáticos seguido por incremento del gasto de triacilglicerol y colesterol hacia la circulación en VLDL son el **estrés emocional** y el **consumo de café**. Las mujeres premenopáusicas parecen estar protegidas contra muchos de estos factores perjudiciales y se cree que esto se relaciona con los efectos beneficiosos de los **estrógenos**. Hay una relación entre el consumo moderado de alcohol y una incidencia más baja de cardiopatía coronaria. Esto tal vez se deba al aumento de las concentraciones de HDL producidas por

incremento de la síntesis de apo A-I y cambios de la actividad de la proteína de transferencia de éster de colesterol. Se ha afirmado que el vino tinto es en particular benéfico, quizá debido a su contenido de antioxidantes. El ejercicio regular aminora la LDL plasmática, pero aumenta la HDL. Las cifras de triacilglicerol también se reducen, debido más probablemente a incremento de la sensibilidad a la insulina, que aumenta la expresión de lipoproteína lipasa.

Cuando los cambios de la dieta fracasan, los medicamentos hipolipidémicos reducirán el colesterol y el triacilglicerol séricos

Una familia de fármacos conocidos como estatinas ha resultado muy eficaz para disminuir el colesterol plasmático y evitar enfermedad del corazón. Las estatinas actúan al inhibir la HMG-CoA reductasa y regular de modo ascendente la actividad del receptor de LDL. Los ejemplos en uso actual son **atorvastatina**, **sinvastatina**, **fluvastatina** y **pravastatina**. La **ezetimiba** reduce las concentraciones sanguíneas de colesterol al inhibir la absorción de colesterol por el intestino al bloquear la captación mediante la **proteína parecida a la C1 de Niemann-Pick**. Otros medicamentos usados incluyen fibratos como el **clofibrato**, y el **genfibrozil** y el **ácido nicotínico**, que actúan sobre todo para producir decremento de los triacilgliceroles plasmáticos al aminorar la secreción hepática de VLDL que contienen triacilglicerol y colesterol. Puesto que la PCSK9 disminuye el número de receptores de LDL expuestos sobre la membrana celular, tiene el efecto de aumentar la concentración sanguínea de colesterol; de este modo, los fármacos que inhiben su actividad son en potencia antiaterogénicos, y varios de esos compuestos se encuentran en estudios clínicos.

Los trastornos primarios de las lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias) son hereditarios

Los defectos hereditarios del metabolismo de lipoproteína llevan a la enfermedad primaria de **hipolipoproteinemia** o **hiperlipoproteinemia** (**cuadro 26-1**). Por ejemplo, la **hipercolesterolemia familiar (FH)**, causa hipercolesterolemia grave y se

CUADRO 26-1 Trastornos primarios de lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias)

Nombre	Defecto	Observaciones
Hipolipoproteinemias Abetalipoproteinemia	No se forman quilomicrones, VLDL o LDL debido a defectos de la carga de apo B con lípido	Es rara; acilgliceroles bajos en sangre; el intestino y el hígado acumulan acilgliceroles. Malabsorción intestinal. La muerte temprana es evitable por medio de administración de dosis grandes de vitaminas liposolubles, en especial vitamina E
Deficiencia familiar de α-lipoproteína Enfermedad de Tangier Enfermedad de ojo de pescado Deficiencias de apo-A-I	En todas hay HDL baja o falta casi total de la misma	Tendencia hacia hipertriacilglicerolemia como resultado de falta de apo C-II, que causa LPL inactiva. Cifras bajas de LDL. Ateroesclerosis en ancianos
Hiperlipoproteinemias Deficiencia familiar de lipoproteína lipasa (tipo I)	Hipertriacilglicerolemia debida a deficiencia de LPL, LPL anormal o deficiencia de apo C-II que produce LPL inactiva	Depuración lenta de quilomicrones y VLDL. Concentraciones bajas de LDL y de HDL. No hay aumento del riesgo de coronariopatía
Hipercolesterolemia familiar (tipo IIa)	Receptores de LDL defectuosos o mutación en la región ligando de apo B-100	Cifras altas de LDL e hipercolesterolemia, que suscitan aterosclerosis y enfermedad coronaria
Hiperlipoproteinemia familiar tipo III (enfermedad de beta amplia, enfermedad por eliminación de remanente, disbetalipoproteinemia familiar)	La deficiencia de la depuración de remanente por el hígado se debe a anormalidad de la apo E. Los pacientes carecen de isoformas E3 y E4, y sólo tienen E2, que no reacciona con el receptor E[a]	Incremento de remanentes de quilomicrón y de VLDL de densidad < 1.019 (β-VLDL). Produce hipercolesterolemia, xantomas y aterosclerosis
Hipertriacilglicerolemia familiar (tipo IV)	Producción excesiva de VLDL a menudo relacionada con intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia	Las concentraciones de colesterol aumentan con las cifras de VLDL. La LDL y la HDL tienden a ser subnormales. Este tipo de modelo por lo general se relaciona con cardiopatía coronaria, diabetes mellitus tipo II, obesidad, alcoholismo y administración de hormonas progestacionales
Hiperalfalipoproteinemia familiar	Incremento de las concentraciones de HDL	Una enfermedad rara al parecer beneficiosa para la salud y la longevidad
Deficiencia de lipasa hepática	La deficiencia de la enzima lleva a acumulación de remanentes de HDL y VLDL ricos en triacilglicerol	Los enfermos tienen xantomas y cardiopatía coronaria
Deficiencia familiar de lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)	La falta de LCAT conduce a bloqueo del transporte inverso de colesterol. La HDL permanece como discos nacientes incapaces de captar colesterol y esterificarlo	Las concentraciones plasmáticas de ésteres de colesterol y lisolecitina son bajas. Hay una fracción de LDL anormal, lipoproteína X, que también se encuentra en individuos con colestasis. La VLDL es anormal (β-VLDL)
Exceso familiar de lipoproteína (a)	La Lp (a) consta de 1 mol de LDL fijo a 1 mol de apo (a). La apo (a) muestra homología estructural con el plasminógeno	Cardiopatía coronaria prematura debida a aterosclerosis, más trombosis debida a inhibición de la fibrinólisis

[a] Hay una relación entre sujetos que poseen el alelo de apo E4 y la incidencia de enfermedad de Alzheimer. Al parecer, la apo E4 se une con más avidez al β-amiloide que se encuentra en las placas neuríticas.

asocia también con aterosclerosis prematura. El defecto está más a menudo en el gen que codifica para el receptor de LDL, de modo que no se elimina LDL de la sangre. Además, las enfermedades como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad renal (síndrome nefrótico) y la aterosclerosis, se relacionan con modelos de lipoproteínas anormales secundarios que son muy similares a una u otra de las enfermedades hereditarias primarias. Casi todas las enfermedades primarias se deben a un defecto a una etapa de formación, transporte o destrucción de lipoproteína (figuras 25-4, 26-5 y 26-6). No todas las anormalidades son perjudiciales.

RESUMEN

- El colesterol es el precursor de todos los otros esteroides en el cuerpo, por ejemplo, corticosteroides, hormonas sexuales, ácidos biliares y vitamina D. También desempeña una función estructural importante en las membranas y en la capa externa de lipoproteínas.
- El colesterol se sintetiza en el organismo por completo a partir de la acetil-CoA. Tres moléculas de acetil-CoA forman mevalonato por medio de la importante reacción reguladora para la vía, catalizada por la HMG-CoA reductasa. A continuación se forma una unidad de isoprenoide de cinco carbonos y seis de éstas se condensan para formar escualeno; este último pasa por ciclos para formar el esteroide madre lanosterol, que después de la pérdida de tres grupos metilo y otros cambios, forma colesterol.
- La síntesis de colesterol en el hígado está regulada en parte por el colesterol en la dieta. En los tejidos, el equilibrio del colesterol se mantiene entre los factores que ocasionan ganancia de colesterol (p. ej., síntesis, captación mediante LDL o receptores recolectores) y los factores que dan por resultado pérdida de colesterol (p. ej., síntesis de esteroide, formación de éster de colesterol, excreción). La actividad del receptor de LDL es modulada por las cifras celulares de colesterol para lograr este equilibrio. En el transporte inverso de colesterol, la HDL capta colesterol desde los tejidos, y la LCAT lo esterifica y deposita en el centro de las partículas. El éster de colesterol en la HDL es captado por el hígado, sea de manera directa o luego de transferencia hacia VLDL, IDL o LDL por medio de la proteína de transferencia de éster de colesterol.
- El colesterol excesivo se excreta desde el hígado en la bilis como colesterol o sales biliares. Una proporción grande de estas últimas se absorbe hacia la circulación porta y regresa hacia el hígado como parte de la circulación enterohepática.
- Las concentraciones altas de colesterol presentes en VLDL, IDL o LDL se relacionan con aterosclerosis, mientras que las cifras altas de HDL tienen un efecto protector.
- Los defectos hereditarios del metabolismo de lipoproteína dan pie a un estado primario de hipolipoproteinemia o hiperlipoproteinemia. Las enfermedades como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad renal y la aterosclerosis muestran modelos de lipoproteína anormales secundarios que semejan ciertas enfermedades primarias.

REFERENCIAS

Agellon LB: Metabolism and function of bile acids. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008:423-440.

Banach M, Rizzo M, Obradovic M, *et al*: PCSK9 inhibition—a novel mechanism to treat lipid disorders? Curr Pharm Des 2013;19:3869.

Burg JS, Espenshade PJ: Regulation of HMG-CoA reductase in mammals and yeast. Prog lipid Res 2011;50:403.

Chiang JY: Bile acids: regulation of synthesis. J Lipid Res 2009;50:1955.

Denke MA: Dietary fats, fatty acids and their effects on lipoproteins. Curr Atheroscler Rep 2006;8:466.

Djoussé L, Gaziano JM: Dietary cholesterol and coronary disease risk: a systematic review. Curr Atheroscler Rep 2009;11:418.

Fernandez ML, West KL: Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. J Nutr 2005;135:2075.

Jiang XC, Zhou HW: Plasma lipid transfer proteins. Curr Opin Lipidol 2006;17:302.

Liscum L: Cholesterol biosynthesis. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008:399-422.

Perez-Sala D: Protein isoprenylation in biology and disease: general overview and perspectives from studies with genetically engineered animals. Front Biosci 2007;12:4456.

Preguntas de examen

Sección V —Metabolismo de los lípidos

1. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a las moléculas de ácido graso es CORRECTA?
   A. Constan de un grupo cabeza ácido carboxílico fijo a una cadena de carbohidrato.
   B. Se llaman poliinsaturados cuando contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono.
   C. Sus puntos de fusión aumentan con la insaturación creciente.
   D. Casi siempre tienen sus dobles enlaces en la configuración *cis* cuando se producen de manera natural.
   E. Se producen en el cuerpo principalmente en forma de ácidos grasos libres (no esterificados).

2. ¿Cuál de los que siguen NO es un fosfolípido?
   A. Esfingomielina.
   B. Plasmalógeno.
   C. Cardiolipina.
   D. Galactosilceramida.
   E. Lisolecitina.

3. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de los gangliósidos es INCORRECTA?
   A. Se derivan de la galactosilceramida.
   B. Contienen una o más moléculas de ácido siálico.
   C. Están presentes en el tejido nervioso en concentraciones altas.
   D. El ganglíosido GM1 es el receptor para la toxina del cólera en el intestino humano.
   E. Funcionan en el reconocimiento de célula-célula.

4. ¿Cuál de los que siguen es un antioxidante rompedor de cadena?
   A. Glutatión peroxidasa.
   B. Selenio.
   C. Superóxido dismutasa.
   D. EDTA.
   E. Catalasa.

5. Después de que se producen a partir de la acetil-CoA en el hígado, los cuerpos cetónicos se usan principalmente para ¿cuál de los procesos que siguen?
   A. Excreción de productos de desecho.
   B. Generación de energía en el hígado.
   C. Conversión en ácidos grasos para almacenamiento de energía.
   D. Generación de energía en los tejidos.
   E. Generación de energía en eritrocitos.

6. El sitio subcelular de descomposición de ácidos grasos de cadena larga a acetil-CoA por medio de β-oxidación es:
   A. El citosol.
   B. La matriz de las mitocondrias.
   C. El retículo endoplasmático.
   D. El espacio intermembrana mitocondrial.
   E. El aparato de Golgi.

7. La carnitina se necesita para la oxidación de ácidos grasos porque:
   A. Es un cofactor para la acil-CoA sintetasa, que activa los ácidos grasos para descomposición.
   B. La acil-CoA de cadena larga ("ácidos grasos activados") necesita entrar a la matriz mitocondrial para ser oxidada, pero no puede cruzar la membrana mitocondrial externa. La transferencia del grupo acilo de la CoA a la carnitina permite que ocurra translocación.
   C. La acil-CoA de cadena larga ("ácidos grasos activados") necesita entrar a la matriz mitocondrial para ser oxidada, pero no puede cruzar la membrana mitocondrial externa. La transferencia del grupo acilo de la CoA a la carnitina permite que ocurra translocación.
   D. La acil-CoA de cadena larga ("ácidos grasos activados") necesita entrar al espacio intermembrana mitocondrial para ser oxidada, pero no puede cruzar la membrana mitocondrial interna. La transferencia del grupo acilo de la CoA a la carnitina permite que ocurra translocación.
   E. Evita la descomposición de acilo graso CoA de cadena larga en el espacio intermembrana mitocondrial.

8. El rompimiento de una molécula de un ácido graso C16 por completo saturado (ácido palmítico) por β-oxidación lleva a la formación de:
   A. 8 moléculas de $FADH_2$, 8 de NADH y 8 de acetil-CoA.
   B. 7 moléculas de $FADH_2$, 7 de NADH y 7 de acetil-CoA.
   C. 8 moléculas de $FADH_2$, 8 de NADH y 7 de acetil-CoA.
   D. 7 moléculas de $FADH_2$, 8 de NADH y 8 de acetil-CoA.
   E. 7 moléculas de $FADH_2$, 7 de NADH y 8 de acetil-CoA.

9. La malonil-CoA, el primer intermediario en la síntesis de ácidos grasos, es un regulador importante del metabolismo de ácidos grasos PORQUE:
   A. Su formación a partir de la acetil-CoA y bicarbonato por la enzima acetil-CoA carboxilasa es el principal paso limitante en la síntesis de ácidos grasos.
   B. Evita la entrada de grupos acil graso en la matriz de las mitocondrias porque es un potente inhibidor de la carnitina palmitoil transferasa-I.
   C. Evita la entrada de grupos acilo graso hacia la matriz de las mitocondrias porque es un potente inhibidor de la carnitina palmitoil transferasa-II.
   D. Evita la entrada de grupos acilo graso hacia la matriz de las mitocondrias porque es un potente inhibidor de la carnitina-acil carnitina translocasa.
   E. Inhibe la síntesis de acilo graso CoA.

10. Se considera que el ácido α-linolénico es esencial desde el punto de vista nutricional en humanos porque:
    A. Es un ácido graso ω3.
    B. Contiene tres dobles enlaces.
    C. En humanos no se pueden introducir dobles enlaces a ácidos grasos más allá de la posición Δ9.
    D. En seres humanos no se pueden introducir dobles enlaces a ácidos grasos más allá de la posición Δ12.
    E. Los tejidos de humano son incapaces de introducir un doble enlace en la posición Δ9 de ácidos grasos.

11. La desactivación de acetil-CoA carboxilasa es favorecida CUANDO:
    A. La concentración citosólica de citrato es alta.
    B. Se encuentra en una forma polimérica.
    C. La concentración de palmitoil-CoA es baja.
    D. El transportador de tricarboxilato es inhibido.
    E. Es desfosforilada.

12. ¿Cuál de los eicosanoides que siguen se sintetiza a partir del ácido linoleico por medio de la vía de la ciclooxigenasa?
    A. Prostaglandina E_1 (PGE_1).
    B. Leucotrieno A_3 (LTA_3).
    C. Prostaglandina E_3 (PGE_3).
    D. Lipoxina A_4 (LXA_4).
    E. Tromboxano A_3 (TXA_3).

13. ¿Cuál de las enzimas que siguen es inhibida por el fármaco antiinflamatorio no esteroideo (NSAID) aspirina?
    A. Lipoxigenasa.
    B. Prostaciclina sintasa.
    C. Ciclooxigenasa.
    D. Tromboxano sintasa.
    E. Δ6 desaturasa.

14. ¿Cuál de los que siguen es el principal producto de la ácido graso sintasa?
    A. Acetil-CoA.
    B. Oleato.
    C. Palmitoil-CoA.
    D. Acetoacetato.
    E. Palmitato.

15. Los ácidos grasos se descomponen por eliminación repetida de fragmentos de dos carbonos como acetil-CoA en el ciclo de la β-oxidación, y se sintetizan por condensación repetida de acetil-CoA hasta que se forma una cadena larga de ácido graso saturado con un número par de carbonos. Dado que los ácidos grasos necesitan desintegrarse cuando hay carencia del aporte de energía, y se sintetizan cuando es suficiente, hay diferencias importantes entre los dos procesos que ayudan a las células a regularlos con eficiencia. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a estas diferencias es INCORRECTA?
    A. La descomposición de ácidos grasos tiene lugar dentro de mitocondrias, mientras que la síntesis ocurre en el citosol.
    B. En la descomposición de ácidos grasos se usa NAD^+ y se produce NADH, mientras que en la síntesis se usa NADPH y produce NADP.
    C. Los grupos acilo graso son activados para descomposición con el uso de CoA, y para síntesis con el uso de proteína transportadora de acilo.
    D. Se requiere transporte a través de la membrana mitocondrial de grupos acilo graso y acetil-CoA para la descomposición de ácidos grasos y la síntesis de los mismos, respectivamente.
    E. El glucagón promueve la síntesis de ácidos grasos, e inhibe la descomposición de los mismos.

16. La lipasa sensible a hormona, la enzima que moviliza ácidos grasos a partir de reservas de triacilglicerol en el tejido adiposo es inhibida por:
    A. Glucagón.
    B. ACTH.
    C. Epinefrina.
    D. Vasopresina.
    E. Prostaglandina E.

17. ¿Cuál de los que siguen describe mejor la acción de la fosfolipasa C?
    A. Libera la cadena de acilo graso desde la posición *sn*-2 de un fosfolípido.
    B. Divide un fosfolípido hacia su grupo cabeza que contiene fosfato y un diacilglicerol.
    C. Libera el grupo cabeza de un fosfolípido, lo cual deja ácido fosfatídico.
    D. Libera la cadena de acilo graso desde la posición *sn*-1 de un fosfolípido.
    E. Libera las cadenas de acilo graso desde las posiciones *sn*-1 y *sn*-2 de un fosfolípido.

18. La enfermedad de Tay-Sachs es una enfermedad por depósito de lípidos causada por un defecto genético que genera deficiencia de cuál de las enzimas que siguen:
    A. β-Galactosidasa.
    B. Esfingomielinasa.
    C. Ceramidasa.
    D. Hexosaminidasa A.
    E. β-Glucosidasa.

19. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor como sigue: se sintetiza en la mucosa intestinal, contiene una concentración alta de triacilglicerol, y se encarga del transporte de lípidos de la dieta en la circulación?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteína de alta densidad.
    C. Lipoproteína de densidad intermedia.
    D. Lipoproteína de baja densidad.
    E. Lipoproteína de muy baja densidad.

20. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor como sigue: se sintetiza en el hígado, contiene una concentración alta de triacilglicerol, y es depurada de la circulación principalmente por el tejido adiposo y el músculo?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteína de alta densidad.
    C. Lipoproteína de densidad intermedia.
    D. Lipoproteína de baja densidad.
    E. Lipoproteína de muy baja densidad.

21. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor como sigue: se forma en la circulación por eliminación de triacilglicerol de lipoproteína de muy baja densidad, contiene colesterol captado a partir de lipoproteína de alta densidad, y suministra colesterol a tejidos extrahepáticos?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteína de alta densidad.
    C. Lipoproteína de densidad intermedia.
    D. Lipoproteína de baja densidad.
    E. Lipoproteína de muy baja densidad.

22. ¿Cuál de las que siguen estará alta en el torrente sanguíneo alrededor de 2 horas después de comer una comida alta en grasa?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteína de alta densidad.
    C. Cuerpos cetónicos.
    D. Ácidos grasos no esterificados.
    E. Lipoproteína de muy baja densidad.

23. ¿Cuál de los que siguen estará alto en el torrente sanguíneo alrededor de 4 horas después de comer una comida alta en grasa?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteína de alta densidad.
    C. Cuerpos cetónicos.
    D. Ácidos grasos no esterificados.
    E. Lipoproteína de muy baja densidad.

24. ¿Cuál de los procesos que siguen NO está involucrado en el flujo de salida de colesterol desde tejidos extrahepáticos y su suministro al hígado para excreción por HDL?
    A. Flujo de salida de colesterol desde los tejidos hacia HDL pre-b por medio de ABCA1.
    B. Esterificación de colesterol a éster de colesterol mediante LCAT para formar HDL_3.
    C. Transferencia de éster de colesterol de HDL a VLDL, IDL, y LDL, por la acción de la proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP).
    D. Flujo de salida de colesterol desde tejidos hacia HDL_3 por medio de SR-B1 y ABCG1.
    E. Captación selectiva de éster de colesterol desde HDL_2 por el hígado por medio de SR-B1.

25. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a los quilomicrones es CORRECTA?
    A. Los quilomicrones se sintetizan dentro de células intestinales, y se secretan hacia la linfa, donde adquieren apolipoproteínas B y C.
    B. El centro de los quilomicrones contiene triacilglicerol y fosfolípidos.
    C. La enzima lipasa sensible a hormona actúa sobre quilomicrones para liberar ácidos grasos a partir de triacilglicerol cuando están unidos a la superficie de células endoteliales en los capilares sanguíneos.
    D. Los remanentes de quilomicrón difieren de los quilomicrones en que son más pequeños y contienen una proporción más baja de triacilglicerol y una proporción más alta de colesterol.
    E. Los quilomicrones son captados por el hígado.

26. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a la biosíntesis de colesterol es CORRECTA?
    A. El paso limitante es la formación de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por la enzima HMG-CoA sintasa.
    B. La síntesis ocurre en el citosol de la célula.
    C. Todos los átomos de carbono en el colesterol sintetizado se originan a partir de acetil-CoA.
    D. El escualeno es el primer intermediario cíclico en la vía.
    E. El sustrato inicial es el nuevo mevalonato.

27. La clase de fármacos llamados estatinas han resultado ser muy eficaces contra la hipercolesterolemia, una causa importante de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular asociada. Estos fármacos disminuyen la concentración plasmática de colesterol al:
    A. Evitar la absorción de colesterol a partir del intestino.
    B. Aumentar la excreción de colesterol desde el organismo por medio de la conversión en ácidos biliares.
    C. Inhibir la conversión de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA en mevalonato en la vía para la biosíntesis de colesterol.
    D. Aumentar la tasa de degradación de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa.
    E. Estimular la actividad del receptor de LDL en el hígado.

28. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de los ácidos biliares (o sales biliares) es INCORRECTA?
    A. Los ácidos biliares primarios se sintetizan en el hígado a partir de colesterol.
    B. Los ácidos biliares se necesitan para la descomposición de grasa por la lipasa pancreática.
    C. Los ácidos biliares secundarios se producen por modificación de ácidos biliares primarios en el hígado.
    D. Los ácidos biliares facilitan la absorción de productos de la digestión de lípidos en el yeyuno.
    E. Los ácidos biliares son recirculados entre el hígado y el intestino delgado en la circulación enterohepática.

29. Un varón de 35 años de edad con hipercolesterolemia grave tiene un antecedente familiar de muertes a una edad joven por cardiopatía y apoplejía. ¿Cuál de los genes que siguen probablemente es defectuoso?
    A. Apolipoproteína E.
    B. El receptor de LDL.
    C. Lipoproteína lipasa.
    D. PCSK9.
    E. LCAT.

30. La proteína recién descubierta, proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9), se ha identificado como un blanco potencial para fármacos antiaterogénicos PORQUE:
    A. Disminuye el número de receptores de LDL expuestos en la superficie celular; de este modo, la captación de LDL disminuye, y la concentración sanguínea de colesterol aumenta.
    B. Inhibe la unión de apoB al receptor de LDL; de este modo, bloquea la captación de la lipoproteína, y aumenta la concentración sanguínea de colesterol.
    C. Incrementa la absorción de colesterol a partir del intestino.
    D. Evita la descomposición de colesterol a ácidos biliares en el hígado.
    E. Incrementa la síntesis y secreción de VLDL en el hígado, lo cual lleva a formación aumentada de LDL en la sangre.


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN VI

Metabolismo de proteínas y aminoácidos

CAPÍTULO 27

Biosíntesis de los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar por qué la falta de ciertos aminoácidos en la dieta que están presentes en casi todas las proteínas no es perjudicial para la salud del humano.
- Apreciar la distinción entre los términos aminoácidos "esenciales" y "nutricionalmente esenciales", e identificar los aminoácidos que son nutricionalmente no esenciales.
- Nombrar los intermediarios del ciclo del ácido cítrico y de la glucólisis que son precursores de aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, glicina y serina.
- Ilustrar el papel clave de las transaminasas en el metabolismo de los aminoácidos.
- Explicar el proceso por el cual se forman la 4-hidroxiprolina y la 5-hidroxilisina de proteínas como el colágeno.
- Describir la presentación clínica del escorbuto y proporcionar una explicación bioquímica de por qué una privación grave de vitamina C (ácido ascórbico) da por resultado este trastorno nutricional.
- Apreciar que, a pesar de la toxicidad del selenio, la selenocisteína es un componente esencial de varias proteínas de mamífero.
- Definir y esbozar la reacción catalizada por una oxidasa de función mixta.
- Identificar el papel de la tetrahidrobiopterina en la biosíntesis de tirosina.
- Indicar el papel de un tRNA modificado en la inserción cotraduccional de selenocisteína hacia proteínas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La deficiencia de los estados de aminoácidos que pueden producirse si faltan aminoácidos esenciales en la dieta, o si están presentes en cantidades inadecuadas. Algunos ejemplos de los estados de deficiencia de aminoácidos endémicos en ciertas regiones de África occidental incluyen **kwashiorkor**, que sobreviene cuando se desteta a un niño y se le suministra una dieta farinácea con poca proteína, y el **marasmo**, en el cual tanto la ingestión calórica como aminoácidos específicos son deficientes. Los individuos con síndrome de intestino corto que carecen de la capacidad para absorber suficientes cantidades de calorías y nutrientes sufren anormalidades nutricionales y metabólicas importantes. Tanto el trastorno nutricional **escorbuto**, una deficiencia de vitamina C en la dieta, como trastornos genéticos específicos, se relacionan con alteración de la capacidad del tejido conjuntivo para formar hidroxiprolina e hidroxilisina. La inestabilidad conformacional resultante del colágeno origina sangrado de encías, hinchazón de articulaciones, cicatrización inadecuada de heridas y por último la muerte. El **síndrome de Menkes**, que se caracteriza por pelo rizado y retraso del crecimiento, depende de una deficiencia de cobre en la dieta, que es un cofactor esencial para la lisil oxidasa, una enzima que funciona en la formación de los enlaces covalentes que fortalecen las fibras de colágeno. Los trastornos genéticos de la biosíntesis del colágeno comprenden varias formas de **osteogénesis imperfecta**, caracterizada por huesos frágiles, y **síndrome de Ehlers-Danlos**, un grupo de trastornos del tejido conjuntivo que suscitan hipermovilidad articular y anormalidades cutáneas debidas a defectos de los genes que codifican para enzimas que incluyen la lisil hidroxilasa.

AMINOÁCIDOS ESENCIALES Y NO ESENCIALES EN EL ASPECTO NUTRICIONAL

Aunque a menudo se les emplea en relación con los aminoácidos, los términos "esencial" y "no esencial" son desorientadores, porque los 20 aminoácidos comunes son esenciales para asegurar la salud. De estos 20 aminoácidos, ocho *deben estar presentes* en la dieta del humano y, así, es mejor llamarlos *"esenciales desde el punto de vista nutricional"*; los otros 12 son "*no esenciales en el aspecto nutricional*" porque no requieren estar presentes en la dieta (**cuadro 27-1**). La distinción entre estas dos clases de aminoácidos se estableció durante el decenio de 1930-1939 al alimentar a individuos humanos con aminoácidos purificados en lugar de proteína. Investigaciones bioquímicas subsiguientes revelaron las reacciones y los intermediarios comprendidos en la biosíntesis de los 20 aminoácidos. Los trastornos por deficiencia de aminoácidos son endémicos en ciertas regiones de África occidental donde las dietas dependen mucho de cereales que son fuentes poco adecuadas de triptófano y lisina. Estos trastornos nutricionales comprenden kwashiorkor, que se produce cuando se retira el seno materno a un niño y se le suministra una dieta feculenta con poca proteína, y marasmo, en el cual hay deficiencia tanto de la ingestión calórica como de aminoácidos específicos.

Vías metabólicas largas forman los aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional

La existencia de requerimientos nutricionales sugiere que la dependencia de un aporte externo de un nutriente dado puede tener mayor valor para la supervivencia que la capacidad para biosintetizarlo. ¿Por qué? Si un nutriente específico está presente en el alimento, un organismo que puede sintetizarlo transferirá a su progenie información genética de valor *negativo* acerca de supervivencia. El valor respecto a supervivencia es negativo en lugar de nulo porque se necesitan ATP y nutrientes para sintetizar DNA "innecesario", incluso si genes codificados específicos ya no se expresan. El número de enzimas que las células procarióticas requieren para sintetizar los aminoácidos esenciales en el aspecto nutricional es grande en comparación con el número de enzimas requeridas para sintetizar los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional (**cuadro 27-2**). Esto sugiere una ventaja en cuanto a supervivencia al retener la capacidad para fabricar aminoácidos "fáciles" mientras que se pierde la capacidad para hacer aminoácidos "difíciles". Las vías metabólicas que forman los aminoácidos nutricionalmente esenciales se encuentran en vegetales y bacterias, pero no en seres humanos, de modo que no se abordan aquí. En este capítulo se estudian las reacciones y los intermediarios involucrados en la biosíntesis por tejidos humanos de los 12 aminoácidos **no esenciales** desde el punto de vista nutricional, y trastornos nutricionales y metabólicos seleccionados relacionados con su metabolismo.

CUADRO 27-1 Requerimientos de aminoácidos de humanos

Esencial desde el punto de vista nutricional	No esencial desde el punto de vista nutricional
Arginina[1]	Alanina
Fenilalanina	Asparagina
Histidina	Aspartato
Isoleucina	Cisteína
Leucina	Glicina
Lisina	Glutamato
Metionina	Glutamina
Treonina	Hidroxilisina[2]
Triptófano	Hidroxiprolina[2]
Valina	Prolina
	Serina
	Tirosina

[1] "Semiesencial" desde el punto de vista nutricional. Es sintetizada a índices inadecuados durante el crecimiento de los niños.
[2] No se requiere para la síntesis de proteína, pero se forma durante el procesamiento postraduccional de colágeno.

CUADRO 27-2 Enzimas requeridas para la síntesis de aminoácidos a partir de intermediarios anfibólicos

Número de enzimas requeridas para sintetizar			
Esencial desde el punto de vista nutricional		**No esencial desde el punto de vista nutricional**	
Arg[a]	7	Ala	1
His	6	Asp	1
Tre	6	Asn[b]	1
Met	5 (4 compartido)	Glu	1
Lis	8	Gln[a]	1
Ile	8 (6 compartido)	Hil[c]	1
Val	6 (compartido)	Hip[d]	1
Leu	7 (5 compartido)	Pro[a]	3
Fen	10	Ser	3
Trp	5 (8 compartido)	Gli[e]	1
	59	Cis[f]	2
		Tir[g]	1
			17

[a] A partir de Glu. [b] A partir de Asp. [c] A partir de Lis. [d] A partir de Pro. [e] A partir de Ser. [f] A partir de Ser más S^{2-}. [g] A partir de Fen.

BIOSÍNTESIS DE LOS AMINOÁCIDOS NUTRICIONALMENTE NO ESENCIALES

Glutamato

El glutamato, el precursor de la llamada "familia glutamato" de aminoácidos, se forma por la amidación reductiva del α-cetoglutarato del ciclo del ácido cítrico, una reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa mitocondrial (**figura 27-1**). La reacción favorece fuertemente la síntesis de glutamato, que disminuye la concentración del ion amonio citotóxico.

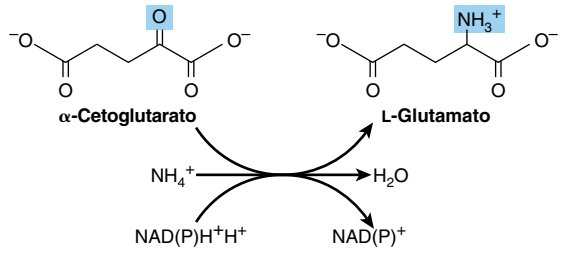


FIGURA 27-1 **La reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa (EC 1.4.1.3).**

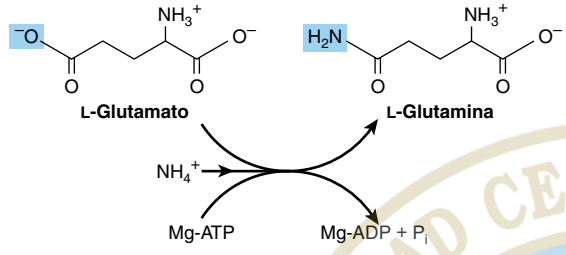


FIGURA 27-2 **La reacción catalizada por la glutamina sintetasa (EC 6.3.1.2).**

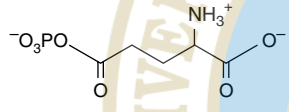


FIGURA 27-3 **γ-Glutamil fosfato.**

Glutamina

La amidación de glutamato hacia glutamina catalizada por la glutamina sintetasa (**figura 27-2**) comprende la formación intermedia de γ-glutamil fosfato (**figura 27-3**). Después de la unión ordenada de glutamato y ATP, el glutamato ataca el γ-fósforo del ATP, lo que forma γ-glutamil fosfato y ADP. A continuación se une el NH_4^+ y, al igual que el NH_3^+, ataca al γ-glutamil fosfato. La liberación de P_i y de un protón desde el grupo γ-amino del intermediario tetraédrico entonces facilita la liberación del producto, glutamina.

Alanina y aspartato

La transaminación de piruvato forma alanina (**figura 27-4**). De modo similar, la transaminación del oxaloacetato forma aspartato.

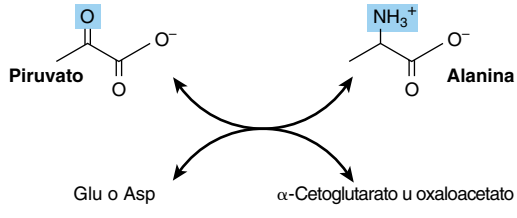


FIGURA 27-4 **Formación de alanina por transaminación de piruvato.** El donador de amino puede ser glutamato o aspartato. De esta manera, el otro producto es α-cetoglutarato u oxaloacetato.

La glutamato deshidrogenasa, glutamina sintetasa y aminotransferasas desempeñan funciones fundamentales en la biosíntesis de aminoácidos

La acción combinada de las enzimas glutamato deshidrogenasa, glutamina sintetasa y las aminotransferasas (figuras 27-1, 27-2 y 27-4) convierte ion amonio inorgánico en el nitrógeno α-amino de los aminoácidos.

Asparagina

La conversión de aspartato en asparagina, catalizada por la asparagina sintetasa (**figura 27-5**), semeja la reacción de la glutamina sintetasa (figura 27-2), pero la glutamina, más que el ion amonio, proporciona el nitrógeno. Sin embargo, las asparagina sintetasas bacterianas también pueden usar ion amonio. La reacción involucra la formación intermedia de aspartil fosfato (**figura 27-6**). La hidrólisis acoplada de PP_i hacia P_i por la pirofosfatasa, EC 3.6.1.1, asegura que la reacción se vea favorecida con fuerza.

Serina

La oxidación del grupo α-hidroxilo del intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato por la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa, lo convierte en 3-fosfohidroxipiruvato, catalizado mediante la transaminación y la desfosforilación subsiguiente a continuación forman serina (**figura 27-7**).

Glicina

Las glicina aminotransferasas pueden catalizar la síntesis de glicina a partir de glioxilato y glutamato o alanina. Al contrario de casi todas las reacciones de aminotransferasa, éstas favorecen con fuerza la síntesis de glicina. En mamíferos, otras vías importantes para la formación de glicina son a partir de colina (**figura 27-8**) y de serina (**figura 27-9**).

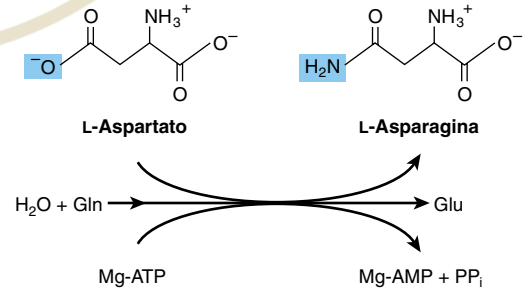


FIGURA 27-5 **La reacción catalizada por la asparagina sintetasa (EC 6.3.5.4).** Note las similitudes y diferencias con la reacción de la glutamina sintetasa (figura 27-2).

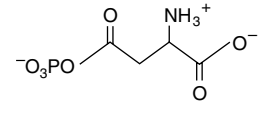


FIGURA 27-6 **Aspartil fosfato.**

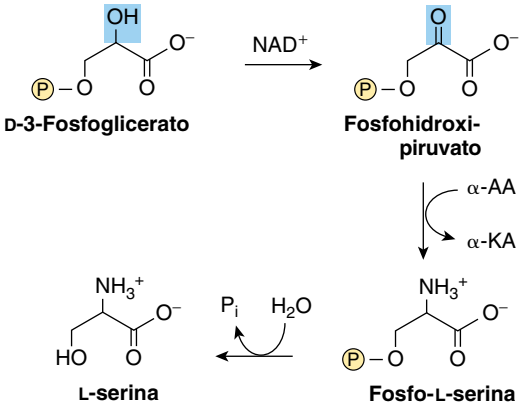


FIGURA 27-7 Biosíntesis de serina. La oxidación del 3-fosfoglicerato es catalizada por la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa (EC 1.1.1.95). La transaminación convierte el fosfohidroxipiruvato en fosfoserina. A continuación, la eliminación hidrolítica del grupo fosforilo catalizada por la fosfoserina hidrolasa (EC 3.1.3.3) forma L-serina.

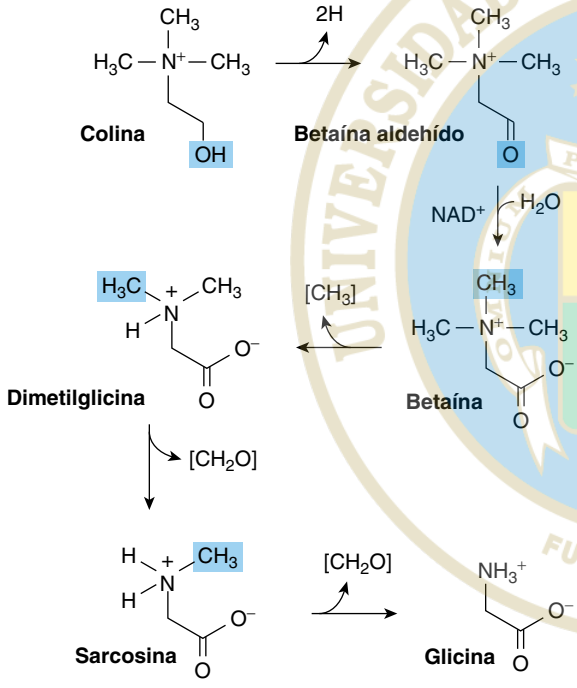


FIGURA 27-8 Formación de glicina a partir de colina. Los catalíticos incluyen colina deshidrogenasa (EC 1.1.91.1), betaína deshidrogenasa (EC 1.2.1.8), betaína-homocisteína *N*-metiltransferasa, sarcosina deshidrogenasa (EC 1.5.8.3), y dimetilglicina deshidrogenasa (EC 1.5.99.2).

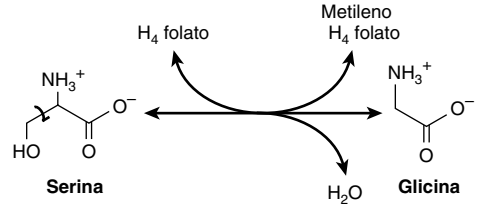


FIGURA 27-9 Interconversión de serina y glicina, catalizada por serina hidroximetiltransferasa (EC 2.1.2.1). La reacción es reversible libre (H_4 folato, tetrahidrofolato).

Prolina

La reacción inicial de la biosíntesis de prolina convierte el grupo γ-carboxilo del glutamato en el anhídrido ácido mixto de glutamato γ-fosfato (figura 27-3). La reducción subsiguiente forma glutamato γ-semialdehído, que después de ciclización espontánea es reducido a L-prolina (**figura 27-10**).

Cisteína

Si bien no es esencial desde el punto de vista nutricional, la cisteína se forma a partir de metionina, que sí lo es. Luego de conversión de metionina en homocisteína (figura 29-19), la homocisteína y la serina forman cistationina, cuya hidrólisis forma cisteína y homoserina (**figura 27-11**).

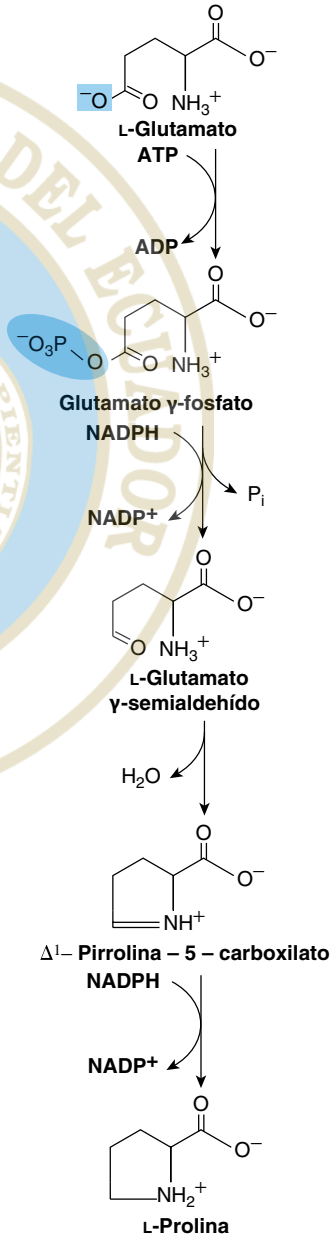


FIGURA 27-10 Biosíntesis de prolina a partir de glutamato. Los catalíticos para estas reacciones son la glutamato 5-cinasa (EC 2.7.2.11), la glutamato semialdehído deshidrogenasa (EC 1.2.1.41), y la pirrolina 5-carboxilato reductasa (EC 1.5.1.2). El cierre del anillo del glutamato semialdehído es espontáneo.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR POTENTIOR EST SAPIENTIA FUNDADA EN 1620 QUITO

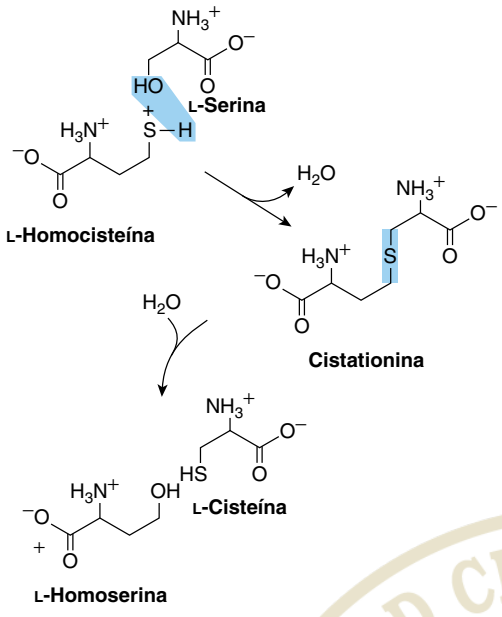


FIGURA 27-11 Conversión de homocisteína y serina en homoserina y cisteína. El azufre de la cisteína se deriva de la metionina, y el esqueleto de carbono, de la serina. Los catalíticos son cistationina beta-sintetasa (EC 4.2.1.22) y cistationina liasa (EC 4.4.1.1).

Tirosina

La fenilalanina hidroxilasa (EC 1.14.16.1) convierte a la fenilalanina en tirosina (**figura 27-12**). Si la dieta contiene cantidades adecuadas del aminoácido esencial desde el punto de vista nutricional fenilalanina, la tirosina es no esencial en ese sentido. Empero, dado que la reacción de la fenilalanina hidroxilasa es irreversible, la tirosina de la dieta no puede reemplazar a la fenilalanina. La catálisis por medio de esta oxigenasa de función mixta incorpora un átomo de O_2 en la posición *para* de la fenilalanina y reduce el otro átomo a agua. El poder reductivo, proporcionado como tetrahidrobiopterina, finalmente deriva del NADPH (figura 27-12).

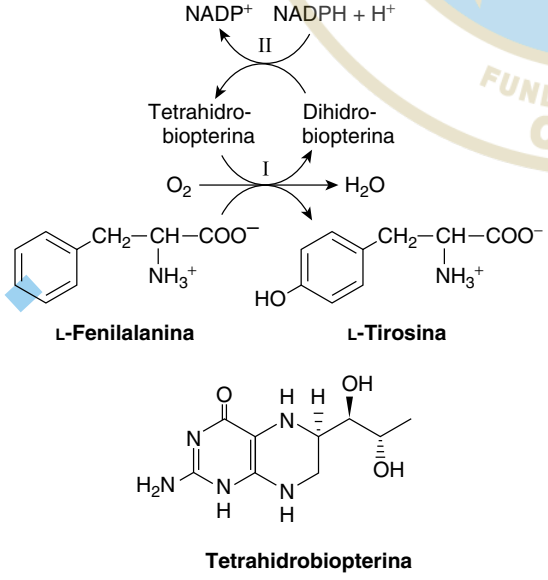


FIGURA 27-12 Conversión de fenilalanina a tirosina por fenilalanina hidroxilasa (EC 1.14.16.1). Hay dos actividades enzimáticas distintas involucradas. La actividad II cataliza la reducción de la dihidrobiopterina por el NADPH, y la actividad I la reducción de O_2 hacia H_2O y de fenilalanina a tirosina. Esta reacción se relaciona con varios defectos del metabolismo de la fenilalanina que se comentan en el capítulo 29.

Hidroxiprolina e hidroxilisina

Se encuentran sobre todo en el colágeno; puesto que no hay tRNA para uno u otro aminoácido hidroxilado, ni la hidroxiprolina ni la hidroxilisina de la dieta se incorpora durante la síntesis de proteína. La peptidil hidroxiprolina e hidroxilisina surgen a partir de prolina y lisina, pero sólo después de que estos aminoácidos se han incorporado a péptidos. La hidroxilación de residuos peptidil prolilo y peptidil lisilo, catalizada por la **prolil hidroxilasa** y la **lisil hidroxilasa** de la piel, el músculo estriado y heridas en granulación necesita, además del sustrato, O_2 molecular, ascorbato, Fe^{2+} y α-cetoglutarato (**figura 27-13**). Por cada mol de prolina o lisina hidroxilado, un mol de α-cetoglutarato se descarboxila hacia succinato. Las hidroxilasas son oxigenasas de función mixta. Un átomo de O_2 se incorpora hacia prolina o lisina, y el otro hacia succinato (figura 27-13). Una deficiencia de la vitamina C requerida para estas dos hidroxilasas da lugar a **escorbuto**, en el cual la estabilidad alterada del colágeno da por resultado gingivorragia, hinchazón de articulaciones, y alteraciones de la cicatrización de heridas (capítulos 5 y 50).

Valina, leucina e isoleucina

Aunque éstos son aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional, las aminotransferasas hísticas interconvierten de manera reversible los tres aminoácidos y sus α-cetoácidos correspondientes. De este modo, estos α-cetoácidos pueden reemplazar sus aminoácidos en la dieta.

Selenocisteína, el vigésimo primer aminoácido

Si bien es poco común que haya selenocisteína (**figura 27-14**) en proteínas, se conocen al menos 25 selenoproteínas en humanos. La selenocisteína está presente en el sitio activo de varias enzimas del humano que catalizan reacciones de redox. Los ejemplos son tiorredoxina reductasa, glutatión peroxidasa, y la desyodasa que convierte la tiroxina en triyodotironina. Cuando está presente, la selenocisteína participa en el mecanismo catalítico de estas enzimas. Un aspecto importante es que el reemplazo de selenocisteína por cisteína puede alterar la actividad catalítica. Los deterioros de las selenoproteínas de humano se han implicado en la tumorigénesis y la aterosclerosis, y se relacionan con miocardiopatía por deficiencia de selenio (enfermedad de Keshan).

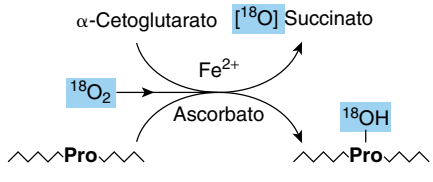


FIGURA 27-13 Hidroxilación de un péptido rico en prolina. El oxígeno molecular es incorporado tanto hacia succinato como hacia prolina. De este modo, la peptidil prolil 4-hidroxilasa (EC 1.14.11.2) es una oxidasa de función mixta. La lisil 5-hidroxilasa (EC 1.14.11.4) cataliza una reacción análoga.

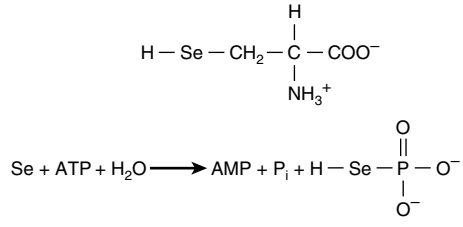


FIGURA 27-14 Selenocisteína (arriba) y la reacción catalizada por la selenofosfato sintetasa (EC 2.7.9.3) (abajo).

La biosíntesis de selenocisteína requiere cisteína, selenato (SeO_4^{2-}), ATP, un tRNA específico y varias enzimas. La serina proporciona el esqueleto de carbono de la selenocisteína. El selenofosfato, que se forma a partir de ATP y selenato (figura 27-14), sirve como el donador de selenio. Al contrario de la hidroxiprolina o la hidroxilisina, la selenocisteína surge de modo cotraduccional en el transcurso de su incorporación hacia péptidos. El anticodón UGA del tRNA poco común designado $tRNA^{Sec}$ por lo normal es señalado como STOP (codón de terminación o sin sentido). La capacidad del aparato sintético de proteína para identificar un codón UGA específico para selenocisteína involucra el elemento de inserción de selenocisteína, una estructura en tallo-asa en la región no traducida del mRNA. La selenocisteína-$tRNA^{Sec}$ se carga primero con serina por la ligasa que carga al $tRNA^{Ser}$. El reemplazo subsiguiente del oxígeno serina por selenio comprende selenofosfato formado por la selenofosfato sintasa (figura 27-14). Reacciones catalizadas por enzimas sucesivas convierten a la cisteil-$tRNA^{Sec}$ en aminoacril-$tRNA^{Sec}$ y luego en selenocisteil- $tRNA^{Sec}$. En presencia de un factor de alargamiento específico que reconoce a la selenocisteil-$tRNA^{Sec}$, la selenocisteína a continuación se puede incorporar en proteínas.

RESUMEN

- Todos los vertebrados pueden formar ciertos aminoácidos a partir de intermediarios anfibólicos o de otros aminoácidos en la dieta. Los intermediarios y los aminoácidos a los cuales dan lugar son α-cetoglutarato (Glu, Gln, Pro, Hip), oxaloacetato (Asp, Asn) y 3-fosfoglicerato (Ser, Gli).
- La cisteína, tirosina e hidroxilisina se forman a partir de aminoácidos esenciales en el aspecto nutricional. La serina proporciona el esqueleto de carbono, y la homocisteína el azufre para la biosíntesis de cisteína.
- En el escorbuto, una enfermedad nutricional que se produce por una deficiencia de vitamina C, la hidroxilación alterada de la peptidil prolina y peptidil lisina da lugar a fracaso para proporcionar los sustratos para el entrecruzamiento de colágenos en maduración.
- La fenilalanina hidroxilasa convierte la fenilalanina en tirosina. Dado que la reacción catalizada por esta oxidasa de función mixta es irreversible, la tirosina no puede volver a ser fenilalanina.
- Ni la hidroxiprolina ni la hidroxilisina de la dieta se incorporan hacia proteínas porque ningún codón o tRNA dicta su inserción hacia péptidos.
- La peptidil hidroxiprolina e hidroxilisina se forman mediante hidroxilación de peptidil prolina o lisina en reacciones catalizadas por oxidasas de función mixta que necesitan vitamina C como cofactor.
- La selenocisteína, un residuo del sitio activo esencial en varias enzimas de mamífero, surge por inserción cotraduccional desde un tRNA previamente modificado.

REFERENCIAS

Beckett GJ, Arthur JR: Selenium and endocrine systems. J Endocrinol 2005;184:455.

Bender, DA: *Amino Acid Metabolism*, 3rd ed. Wiley, 2012.

Donovan J, Copeland PR: The efficiency of selenocysteine incorporation is regulated by translation initiation factors. J Mol Biol 2010;400:659.

Kilberg MS: Asparagine synthetase chemotherapy. Annu Rev Biochem 2006;75:629.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Stickel F, Inderbitzin D, Candinas D: Role of nutrition in liver transplantation for end-stage chronic liver disease. Nutr Rev 2008;66:47.

Turanov AA, Shchedrina VA, Everley RA *et al*: Selenoprotein S is involved in maintenance and transport of multiprotein complexes. Biochem J. 2014;462:555.

CAPÍTULO 28

Catabolismo de proteínas y de nitrógeno de aminoácidos

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir el recambio de proteína, indicar la tasa media de recambio de proteína en individuos sanos, y proporcionar ejemplos de proteínas de ser humano que son degradadas a tasas mayores que la tasa media.
- Describir los eventos en el recambio de proteína por medio de vías tanto dependientes de ATP como independientes de ATP, y los papeles en la degradación de proteína de la ubiquitina, los receptores de superficie celular, las asialoglucoproteínas circulantes y los lisosomas.
- Indicar cómo los productos terminales finales del metabolismo del nitrógeno en mamíferos difieren de los que se encuentran en aves y peces.
- Ilustrar las funciones centrales de las transaminasas (aminotransferasas), de la glutamato deshidrogenasa y de la glutaminasa en el metabolismo de nitrógeno en seres humanos.
- Usar fórmulas estructurales para representar las reacciones que convierten NH_3, CO_2 y el nitrógeno amida del aspartato en urea, e identificar las ubicaciones subcelulares de las enzimas que catalizan la biosíntesis de la urea.
- Indicar las funciones de la regulación alostérica y del acetilglutamato en la regulación de los pasos más tempranos en la biosíntesis de urea.
- Explicar por qué defectos metabólicos en diferentes enzimas de la biosíntesis de la urea, aunque distintos en el ámbito molecular, generan signos y síntomas clínicos similares.
- Describir tanto los métodos clásicos como el papel de la espectrometría de masa en tándem en la investigación de recién nacidos para buscar enfermedades metabólicas hereditarias.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En adultos normales, la ingestión de nitrógeno coincide con el nitrógeno excretado. El balance positivo de nitrógeno, un exceso de nitrógeno ingerido sobre el nitrógeno excretado, acompaña al crecimiento y el embarazo. El balance negativo de nitrógeno, en el cual la pérdida excede la ingestión, puede observarse después de intervención quirúrgica, cáncer avanzado, y en los trastornos nutricionales kwashiorkor y marasmo. Los trastornos genéticos que se producen por defectos en los genes que codifican para la ubiquitina, las ubiquitina ligasas, o las enzimas desubiquitinantes que participan en la degradación de ciertas proteínas comprenden el síndrome de Angelman, la enfermedad de Parkinson juvenil, el síndrome de Von Hippel-Lindau, y la policitemia congénita. En este capítulo se describe de qué modo el nitrógeno de aminoácidos se convierte en urea y los trastornos metabólicos que acompañan a los defectos en este proceso. El amoníaco, que es muy tóxico, se forma en humanos principalmente a partir del nitrógeno α-amino de aminoácidos. En consecuencia, los tejidos convierten el amoníaco en el nitrógeno amida del aminoácido no tóxico glutamina. La desaminación subsiguiente de la glutamina en el hígado libera amoníaco, que luego es convertido de manera eficaz en urea, que es no tóxica. Sin embargo, si la función del hígado está alterada, como en la cirrosis o la hepatitis, las concentraciones sanguíneas altas de amonio generan signos y síntomas clínicos. Cada enzima del ciclo de la urea proporciona ejemplos de defectos metabólicos y sus consecuencias fisiológicas. Además, el ciclo de la urea provee un útil modelo molecular para el estudio de defectos metabólicos en humanos.

RECAMBIO DE PROTEÍNA

La degradación y síntesis continuas de proteínas celulares (recambio) suceden en todas las formas de vida. Cada día, hay recambio de 1 a 2% de la proteína corporal total de humanos, principalmente proteína muscular. Los tejidos que están pasando por reordenamiento estructural, por ejemplo, el tejido del útero en el transcurso de la gestación, el músculo estriado en la inanición, y el tejido de la cola del renacuajo durante la metamorfosis, tienen índices altos de degradación de proteína. Si bien alrededor de 75% de los aminoácidos liberados por la degradación de proteína se reutiliza, los aminoácidos libres excesivos restantes no se almacenan para uso

futuro. Los aminoácidos no incorporados de inmediato en nueva proteína son degradados con rapidez. La principal porción de los esqueletos de carbono de los aminoácidos se convierte en intermediarios anfibólicos, mientras que en humanos el nitrógeno amino se convierte en urea y se excreta en la orina.

PROTEASAS Y PEPTIDASAS DEGRADAN PROTEÍNAS HACIA AMINOÁCIDOS

La susceptibilidad relativa de una proteína a degradación se expresa como su vida media ($t_{½}$), el tiempo necesario para disminuir sus cifras a la mitad del valor inicial. La vida media de las proteínas del hígado varía desde menos de 30 minutos hasta más de 150 horas. Las enzimas "normalizadoras" o "caseras" ("*house keeping*") típicas tienen valores de $t_{½}$ de más de 100 horas. En contraste, las enzimas reguladoras clave pueden tener valores de $t_{½}$ de apenas 0.5 a 2 horas. Las secuencias PEST, regiones ricas en prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T), establecen a algunas proteínas como objetivos para degradación rápida. Las proteasas intracelulares hidrolizan enlaces peptídicos internos. Los péptidos resultantes a continuación se degradan hacia aminoácidos por medio de endopeptidasas que dividen enlaces peptídicos internos, y mediante aminopeptidasas y carboxipeptidasas que eliminan aminoácidos de manera secuencial desde las terminales amino y carboxilo, respectivamente.

Degradación independiente de ATP

La degradación de glucoproteínas de la sangre (capítulo 46) sigue a la pérdida de una porción ácido siálico a partir de los extremos no reductores de sus cadenas de oligosacárido. Las asialoglucoproteínas a continuación son internalizadas por receptores de asialoglucoproteína de células hepáticas, y degradadas por proteasas lisosomales. Las proteínas extracelulares, asociadas a membrana, e intracelulares de vida prolongada, son degradadas en lisosomas por medio de procesos independientes de ATP.

Degradación dependiente de ATP y de ubiquitina

La degradación de proteínas reguladoras que tienen vida media breve, y las proteínas anormales o plegadas de modo erróneo, ocurre en el citosol, lo cual requiere ATP y **ubiquitina**; nombre que surge del hecho de que está presente en todas las células eucarióticas, la ubiquina es un polipéptido pequeño (8.5 kDa, 76 residuos) que establece a muchas proteínas intracelulares como blanco para degradación. La estructura primaria de la ubiquitina está muy conservada. Sólo 3 de 76 residuos difieren entre la ubiquitina de levaduras y la de seres humanos. La **figura 28-1** muestra tres dimensiones estructurales de ubiquitina. Las moléculas de ubiquitina están fijas mediante **enlaces no α-peptídicos** que se forman entre el carboxilo terminal de la ubiquitina y los grupos ε-amino de residuos lisilo en la proteína blanco (**figura 28-2**). El residuo presente en su amino terminal influye sobre el hecho de si una proteína es ubiquitinada. El amino terminal Met o Ser retarda la ubiquitinación, mientras que Asp o Arg la acelera. La fijación de una molécula de ubiquitina única a proteínas

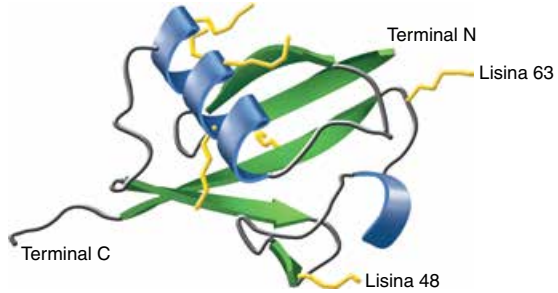


FIGURA 28-1 Estructura tridimensional de la ubiquitina. Se muestran las hélices α (azul), las cadenas β (verde), y los grupos R de residuos de lisina (anaranjado). La lis48 y la lis63 son sitios para la fijación de moléculas de ubiquitina adicionales durante la poliubiquitinación. Creado por Rogerdodd en Wikipedia usando PyMOL, PDB id 1ubi, y con créditos para el European Bioinformatics Institute.

transmembrana altera su localización subcelular y las establece como objetivos para degradación. Las proteínas solubles pasan por **poliubiquitinación**, la fijación, catalizada por ligasa, de cuatro o más moléculas de ubiquitina adicionales en los residuos de lisina 63 y 68 (figura 28-1). La degradación subsiguiente de proteínas marcadas con ubiquitina tiene lugar en el **proteasoma**, una macromolécula que también es omnipresente en células eucariontes. El proteasoma consta de un complejo de proteínas cilíndrico, macromolecular, cuyos anillos apilados forman un poro

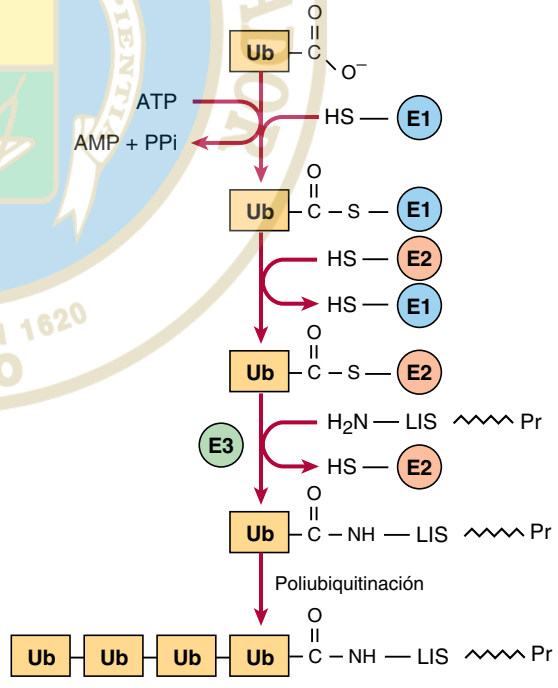


FIGURA 28-2 Reacciones comprendidas en la fijación de ubiquitina (Ub) a proteínas. Tres enzimas están involucradas. La E1 es una enzima activadora, E2 es una ligasa, y E3 es una transferasa. Si bien se describen como entidades únicas, hay varios tipos de E1, y más de 500 de E2. El COOH terminal de la ubiquitina primero forma un tioéster. La hidrólisis acoplada de PP_i por la pirofosfatasa asegura que la reacción procederá con facilidad. Una reacción de intercambio de tioéster ahora transfiere la ubiquitina activada a E2. Después E3 cataliza la transferencia de ubiquitina hacia el grupo ε-amino de un residuo lisilo de la proteína blanco. Rondas adicionales de ubiquitinación originan poliubiquitinación subsiguiente.

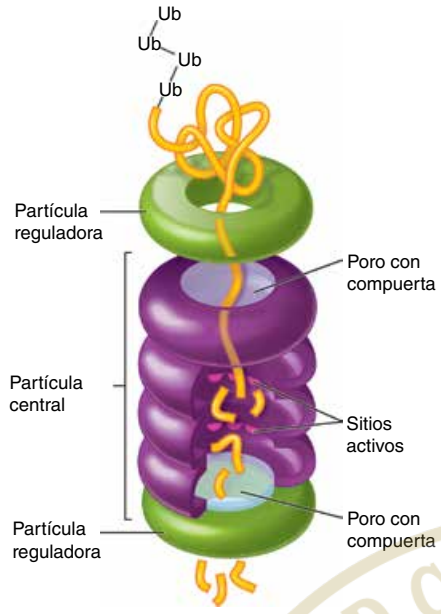


FIGURA 28-3 Representación de la estructura de un proteasoma. El anillo superior tiene una compuerta para permitir que sólo las proteínas poliubiquitinadas entren al proteasoma, donde proteasas internas inmovilizadas las degradan a péptidos.

central que alberga los sitios activos de enzimas proteolíticas. De este modo, para degradación, una proteína debe entrar primero en el poro central. La entrada en el centro está regulada por los dos anillos externos que reconocen proteínas poliubiquitinadas (**figuras 28-3 y 28-4**).

Aaron Ciechanover y Avram Hershko de Israel, e Irwin Rose de EU, fueron galardonados con el Premio Nobel de Química de 2004 por el descubrimiento de la degradación de proteína mediada por ubiquitina. Los trastornos genéticos que se producen por defectos en los genes que codifican para ubiquitina, ubiquitina ligasas, o enzimas desubiquitinantes son el síndrome de Angelman, la enfermedad de Parkinson juvenil autosómica recesiva, el síndrome de Von Hippel-Lindau, y la policitemia congénita. En los capítulos 4 y 35 se presentan aspectos adicionales de la degradación de proteína y de la ubiquitinación, incluso su papel en el ciclo celular.

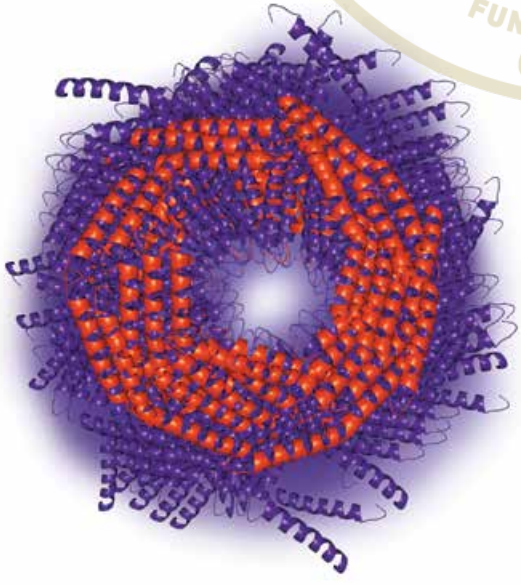


FIGURA 28-4 Un proteasoma visto desde arriba. Creado por Rogerdodd en Wikipedia, y con créditos para el European Bioinformatics Institute.

EL INTERCAMBIO INTERÓRGANO MANTIENE LAS CONCENTRACIONES CIRCULANTES DE AMINOÁCIDOS

El mantenimiento de cifras de estado estable de aminoácidos que circulan en el plasma entre las comidas depende del balance neto entre la liberación desde reservas de proteína endógenas y la utilización por diversos tejidos. El músculo genera más de la mitad del fondo común corporal total de aminoácidos libres, y el hígado es el sitio de las enzimas del ciclo de la urea necesarias para la eliminación del nitrógeno excesivo. Así, el músculo y el hígado desempeñan funciones importantes en el mantenimiento de las concentraciones de aminoácidos en la circulación.

En la **figura 28-5** se resume el estado posterior a la absorción. Los aminoácidos libres, en especial alanina y glutamina, se liberan desde el músculo hacia la circulación. La alanina se extrae principalmente en el hígado y la glutamina se extrae en el intestino y los riñones, y ambos convierten una porción importante en alanina. La glutamina también sirve como una fuente de amoníaco para excreción por los riñones. Estos últimos proporcionan una fuente importante de serina para captación por tejidos periféricos, incluso hígado y músculo. Los aminoácidos de cadena ramificada, en particular la valina, son liberados por el músculo y captados de forma predominante por el cerebro.

La alanina es un **aminoácido gluconeogénico** clave (**figura 28-6**). El índice de gluconeogénesis hepática a partir de alanina es mucho más alto que el proveniente de todos los otros aminoácidos. La capacidad del hígado para gluconeogénesis desde alanina no se satura sino hasta que las cifras de alanina alcanzan 20 a 30 veces su concentración fisiológica normal. Luego de una comida con alto contenido de proteína, los tejidos esplácnicos liberan

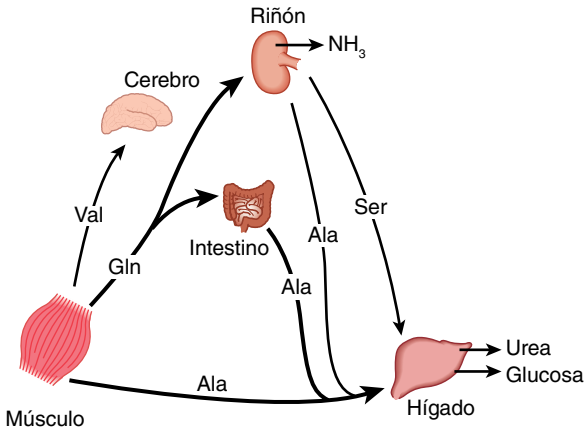


FIGURA 28-5 Intercambio de aminoácidos interórganos en humanos normales después de absorción. Se muestran la función clave de la alanina en el gasto de aminoácidos desde el músculo y el intestino, y la captación por el hígado.

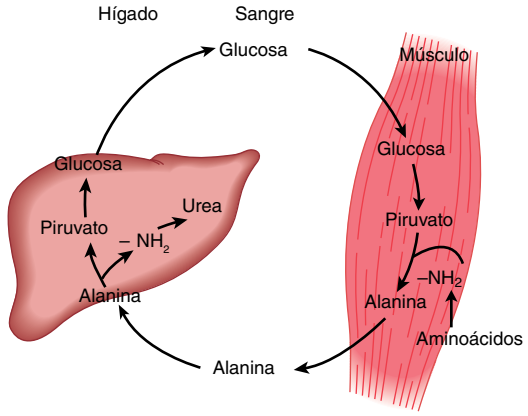


FIGURA 28-6 El ciclo de la glucosa-alanina. La alanina se sintetiza en el músculo mediante transaminación del piruvato derivado de glucosa, se libera hacia el torrente sanguíneo, y el hígado la capta. En este último órgano, el esqueleto de carbono de la alanina se reconvierte en glucosa y se libera hacia el torrente sanguíneo, donde está disponible para captación por el músculo y resíntesis de alanina.

aminoácidos (**figura 28-7**), mientras que los músculos periféricos extraen aminoácidos, en ambos casos de manera predominante aminoácidos de cadena ramificada. De ese modo, éstos desempeñan una función especial en el metabolismo de nitrógeno; en el estado de ayuno, proporcionan una fuente de energía al cerebro, en tanto que en el estado posprandial son extraídos predominantemente por los músculos, una vez que han sido preservados por el hígado.

LOS ANIMALES CONVIERTEN EL NITRÓGENO α-AMINO EN PRODUCTOS TERMINALES VARIADOS

Dependiendo de su nicho ecológico y de sus características fisiológicas, diferentes animales excretan el nitrógeno excesivo como amoníaco, como ácido úrico, o como urea. El ambiente acuoso de los peces teleósteos, que son **amonotélicos** (que excretan amoníaco), les permite excretar agua continuamente para facilitar la

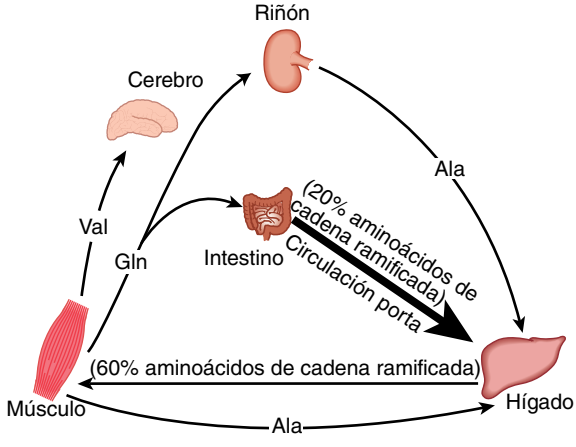


FIGURA 28-7 Resumen del intercambio de aminoácidos entre órganos justo después de la alimentación.

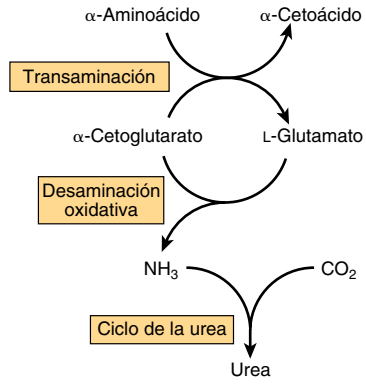


FIGURA 28-8 Flujo general de nitrógeno en el catabolismo de aminoácidos.

excreción de amoníaco, que es muy tóxico. Si bien este método es apropiado para un animal acuático, las aves deben conservar agua y mantener el peso bajo. Las aves que son **uricotélicas**, abordan ambos problemas al excretar ácido úrico rico en nitrógeno (figura 33-11) como un guano semisólido. Muchos animales terrestres, incluso los seres humanos, son **ureotélicos**, y excretan urea no tóxica, altamente hidrosoluble. Dado que la urea no es tóxica para humanos, la concentración alta en sangre en pacientes con enfermedad renal es una consecuencia de función renal alterada, no una causa.

BIOSÍNTESIS DE LA UREA

La biosíntesis de la urea ocurre en cuatro etapas: 1) transaminación, 2) desaminación oxidativa de glutamato, 3) transporte de amoníaco y 4) reacciones del ciclo de la urea (**figura 28-8**). La expresión en el hígado de los RNA para todas las enzimas del ciclo de la urea aumenta varias veces en la inanición, probablemente como consecuencia de degradación aumentada de proteína para proporcionar energía.

La transaminación transfiere nitrógeno α-amino a α-cetoglutarato, lo que forma glutamato

Las reacciones de transaminación interconvierten pares de α-aminoácidos y α-cetoácidos (**figura 28-9**). Las reacciones de transaminación, que son libremente reversibles, también funcionan en la biosíntesis de aminoácidos (figura 27-4). Todos los aminoácidos comunes, excepto la lisina, treonina, prolina e hidro-

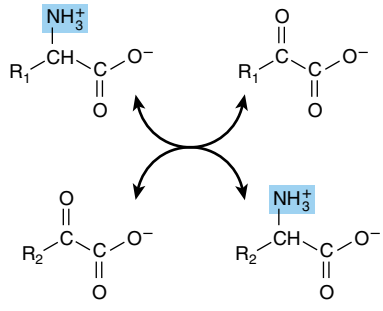


FIGURA 28-9 Transaminación. La reacción es libremente reversible, con una constante de equilibrio cercana a la unidad.

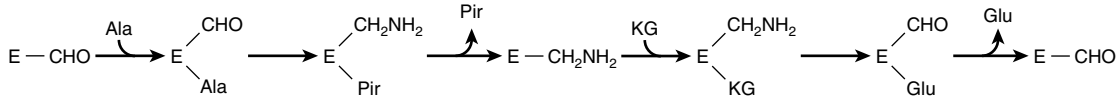


FIGURA 28-10 Mecanismo de "ping-pong" para la transaminación. E-CHO y E-CH_2NH_2 representan fosfato de piridoxal y fosfato de piridoxamina unidos a enzima, respectivamente. (Ala, alanina; Glu, glutamato; KG, α-cetoglutarato; Pir, piruvato).

xiprolina participan en la transaminación. La transaminación no está restringida a grupos α-amino. El grupo δ-amino de la ornitina (no así el grupo ε-amino de la lisina) pasa fácilmente por transaminación.

La alanina-piruvato aminotransferasa (alanina aminotransferasa, EC 2.6.1.2) y la glutamato-α-cetoglutarato aminotransferasa (glutamato aminotransferasa, EC 2.6.1.1) catalizan la transferencia de grupos amino hacia piruvato (lo que forma alanina) o hacia α-cetoglutarato (lo que forma glutamato).

Cada aminotransferasa es específica para un par de sustratos, pero inespecífica para el otro par. Puesto que la alanina también es un sustrato para la glutamato aminotransferasa, todo el nitrógeno amino proveniente de aminoácidos que pasan por transaminación puede concentrarse en el glutamato. Esto es importante porque el L-glutamato es el único aminoácido que pasa por desaminación oxidativa a un índice apreciable en tejidos de mamífero. De esta manera, la formación de amoníaco a partir de grupos α-amino ocurre principalmente por medio del nitrógeno α-amino del L-glutamato.

La transaminación ocurre por medio de un mecanismo de "ping-pong" que se caracteriza por adición de un sustrato y liberación de un producto alternadas (**figura 28-10**). Después de la eliminación de su nitrógeno α-amino mediante transaminación, el "esqueleto" de carbono restante de un aminoácido es degradado por medio de vías que se comentan en el capítulo 29.

El fosfato de piridoxal (PLP), un derivado de la vitamina B_6 está presente en el sitio catalítico de todas las aminotransferasas, y desempeña un papel clave en la catálisis. Durante la transaminación el PLP sirve como un "transportador" de grupos amino. Se forma una base de Schiff unida a enzima (**figura 28-11**) entre el grupo oxo de PLP unido a enzima y el grupo α-amino de un α-aminoácido. La base de Schiff puede reordenarse de diversas maneras. En la transaminación, el reordenamiento forma un cetoácido y un fosfato de piridoxamina unido a enzima. Como se mencionó, ciertas enfermedades se asocian con concentración sérica alta de transaminasas (cuadro 7-2).

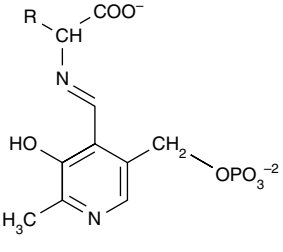


FIGURA 28-11 Estructura de una base de Schiff formada entre fosfato de piridoxal y un aminoácido.

LA L-GLUTAMATO DESHIDROGENASA OCUPA UNA POSICIÓN FUNDAMENTAL EN EL METABOLISMO DE NITRÓGENO

La transferencia de nitrógeno amino hacia α-cetoglutarato forma L-glutamato. La **L-glutamato deshidrogenasa hepática** (**GDH**), que puede usar NAD^+ o $NADP^+$, libera este nitrógeno como amoníaco (**figura 28-12**). La conversión de nitrógeno α-amino en amoníaco por la acción concertada de la glutamato aminotransferasa y la GDH suele denominarse "transdesaminación". La actividad de GDH en el hígado es inhibida de modo alostérico por ATP, GTP y NADH, y activada por ADP. La reacción de GDH es libremente reversible, y funciona también en la biosíntesis de aminoácidos (figura 27-1).

LAS AMINOÁCIDO OXIDASAS TAMBIÉN ELIMINAN NITRÓGENO COMO AMONÍACO

Aun cuando su importancia fisiológica es incierta, las L-aminoácido oxidasas del hígado y los riñones convierten un aminoácido en un α-iminoácido que se descompone hacia un α-cetoácido con liberación de ion amonio (**figura 28-13**). El oxígeno molecular reoxida a la flavina reducida, lo que forma peróxido de hidrógeno (H_2O_2), al cual luego la catalasa divide hacia O_2 y H_2O, EC 1.11.1.6.

La intoxicación por amoníaco pone en peligro la vida

El amoníaco producido por las bacterias entéricas y que se absorbe hacia la sangre venosa porta, y el amoníaco producido por los tejidos, se eliminan con rapidez de la circulación por medio del hígado, y se convierten en urea. Así, en circunstancias normales únicamente hay cantidades traza (10 a 20 mg/dL) en la sangre periférica. Esto es esencial, dado que el amoníaco es tóxico para el sistema nervioso central. Cuando la sangre porta no pasa por el hígado, las cifras sanguíneas de amoníaco pueden alcanzar concentraciones tóxicas. Esto sucede en presencia de función

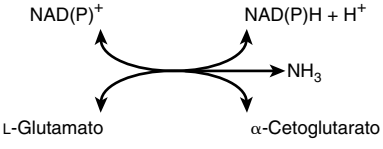


FIGURA 28-12 La reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa, EC 1.4.1.2. $NAD(P)^+$ significa que el NAD^+ o $NADP^+$ puede servir como el oxidorreductor. La reacción es reversible, pero favorece fuertemente la formación de glutamato.

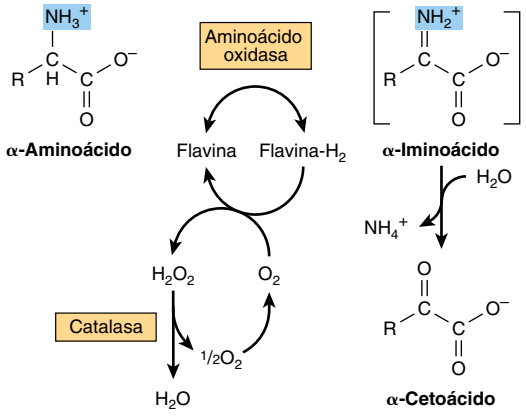


FIGURA 28-13 Desaminación oxidativa catalizada por la L-aminoácido oxidasa (L-α-aminoácido:O_2 oxidorreductasa, EC 1.4.3.2). El α-iminoácido, que se muestra entre corchetes, no es un intermediario estable.

hepática gravemente alterada, o cuando se forman enlaces colaterales entre las venas porta y sistémicas en la cirrosis. Los síntomas de **intoxicación por amoníaco** son temblor, lenguaje cercenado, visión borrosa, coma y finalmente la muerte. El amoníaco puede ser tóxico para el cerebro debido en parte a que reacciona con α-cetoglutarato para formar glutamato. El decremento resultante de las cifras de α-cetoglutarato después altera la función del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) en neuronas.

La glutamina sintetasa fija el amoníaco como glutamina

La **glutamina sintetasa** mitocondrial cataliza la formación de glutamina (**figura 28-14**). Puesto que la síntesis de enlace amida está acoplada a la hidrólisis de ATP hacia ADP y P_i, la reacción favorece fuertemente la síntesis de glutamina. Durante la catálisis, el glutamato ataca el grupo γ-fosforilo del ATP, lo que forma γ-glutamil fosfato y ADP. Después de la desprotonación de NH_4^+, el NH_3 ataca el γ-glutamil fosfato, y se liberan glutamina y P_i. Además de proporcionar glutamina para que sirva como un transportador de nitrógeno, carbono y energía entre órganos (figura 28-5), la glutamina sintetasa desempeña una función importante en la destoxificación de amoníaco y la homeostasis acidobásica. Una rara deficiencia de glutamina sintetasa en recién nacidos da lugar a daño cerebral grave, insuficiencia multiorgánica y muerte.

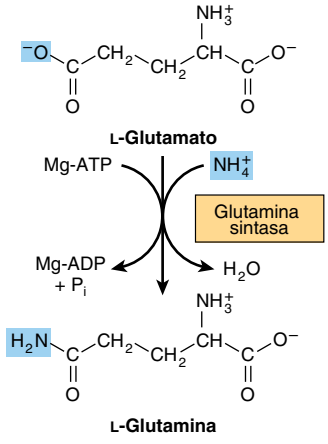


FIGURA 28-14 Formación de glutamina, catalizada por la glutamina sintasa, EC 6.3.1.2.

Glutaminasa y asparaginasa desamidato glutamina y asparagina

Hay dos isoformas de glutaminasa mitocondrial en humanos, llamadas glutaminasas tipo hepático y tipo renal. Las glutaminasas, que son productos de diferentes genes, difieren respecto a su estructura, cinética y regulación. La concentración de glutaminasa hepática aumenta en respuesta a ingestión alta de proteína, mientras que la glutaminasa tipo renal aumenta en los riñones en la acidosis metabólica. La liberación hidrolítica del nitrógeno amida de la glutamina como amoníaco, catalizada por la glutaminasa (**figura 28-15**), favorece con fuerza la formación de glutamato. La L-asparaginasa cataliza una reacción análoga (EC 3.5.1.1). De esta manera, la acción concertada de la glutamina sintetasa y de la glutaminasa cataliza la interconversión de ion amonio libre y glutamina.

La formación y secreción de amoníaco mantienen el equilibrio acidobásico

La excreción hacia la orina del amoníaco producido por las células de los túbulos renales facilita la conservación de catión y la regulación del equilibrio acidobásico. La **acidosis metabólica** incrementa la producción de amoníaco a partir de aminoácidos renales intracelulares, en especial glutamina, en tanto que la **alcalosis metabólica** la aminora.

La urea es el principal producto terminal del catabolismo de nitrógeno en humanos

La síntesis de 1 mol de urea necesita 3 mol de ATP, 1 mol, cada uno, de ion amonio y de aspartato, y emplea cinco enzimas (**figura 28-16**). De los seis aminoácidos que participan, el *N*-acetilglutamato funciona sólo como un activador de enzima. Los otros funcionan como acarreadores de átomos que, por último, se con-

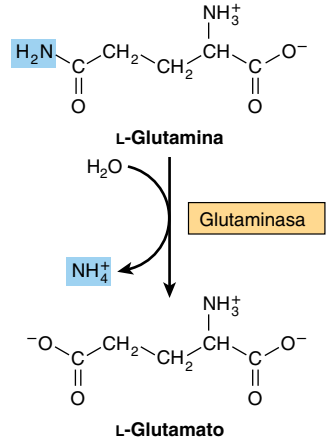


FIGURA 28-15 La reacción catalizada de la glutaminasa, EC 3.5.1.2. La reacción procede en esencia de modo irreversible en la dirección de la formación de glutamato y NH_4^+. Note que se elimina el nitrógeno *amida*, no el nitrógeno α-amino.

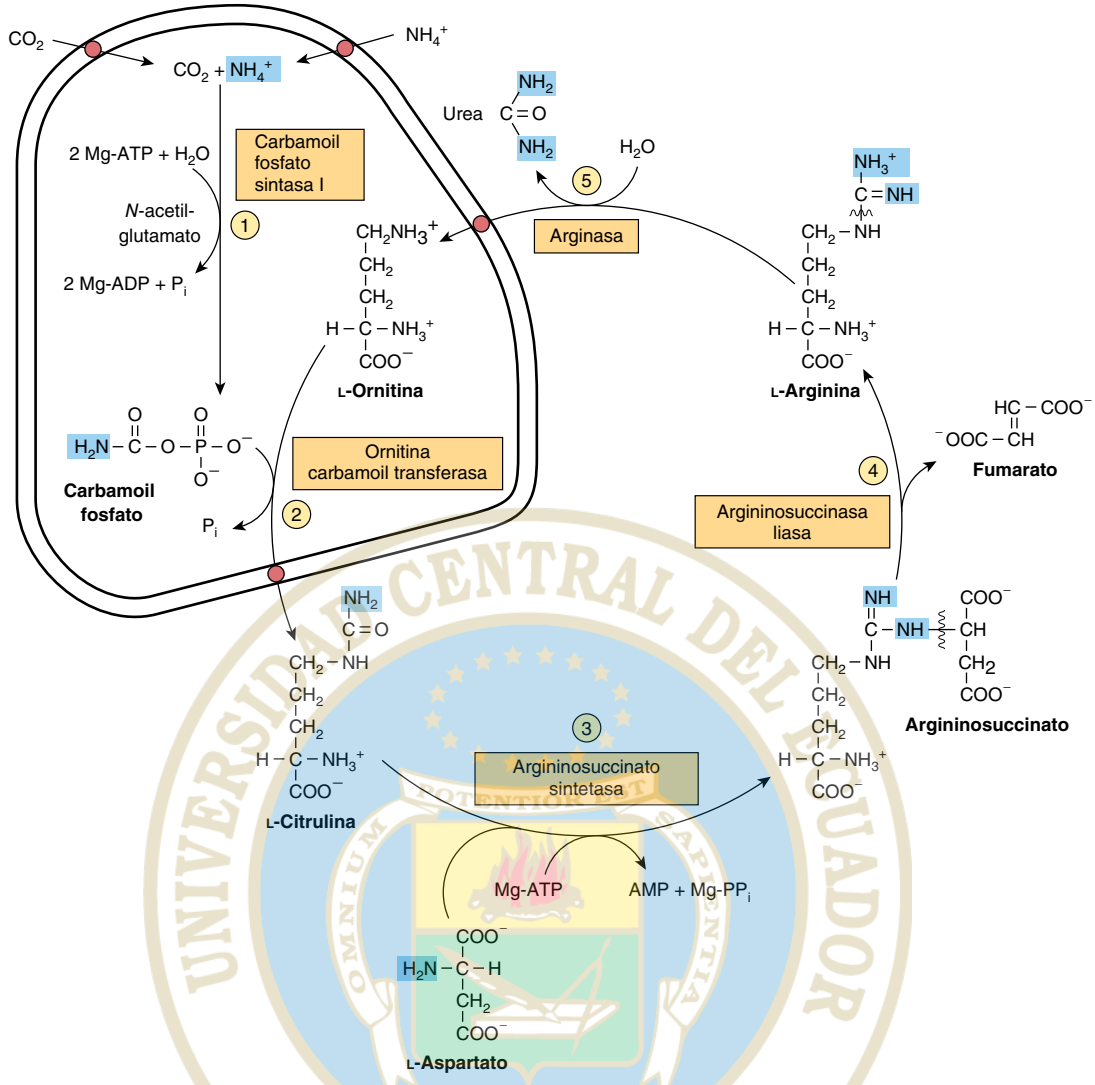


FIGURA 28-16 **Reacciones e intermediarios de la biosíntesis de la urea.** Los grupos que contienen nitrógeno que contribuyen a la formación de urea están sombreados. Las reacciones ① y ② ocurren en la matriz de las mitocondrias hepáticas, y las reacciones ③, ④ y ⑤, en el citosol hepático. El CO_2 (como bicarbonato), el ion amonio, la ornitina y la citrulina entran a la matriz mitocondrial por medio de acarreadores específicos (véanse los puntos de color rojo) presentes en la membrana interna de las mitocondrias del hígado.

vierten en urea. El principal papel metabólico de la **ornitina**, **citrulina** y **argininosuccinato** en mamíferos es la síntesis de urea, que es un proceso cíclico. Mientras que se consumen ion amonio, CO_2, ATP y aspartato, la ornitina consumida en la reacción 2 es regenerada en la reacción 5. Así, no hay pérdida o ganancia neta de ornitina, citrulina, argininosuccinato o arginina. Como se indica en la figura 28-16, algunas reacciones de la síntesis de urea ocurren en la matriz de la mitocondria, y otras reacciones en el citosol

La carbamoil fosfato sintetasa I inicia la biosíntesis de urea

La **carbamoil fosfato sintetasa I** (EC 6.3.4.16) mitocondrial cataliza la condensación de CO_2, amoníaco y ATP para formar **carbamoil fosfato**. Una forma citosólica de esta enzima, la carbamoil fosfato sintetasa II, usa glutamina en lugar de amoníaco como el donador de nitrógeno, y funciona en la biosíntesis de pirimidina (figura 33-9). Así, la acción concertada de la glutamato deshidrogenasa y de la carbamoil fosfato sintetasa I, transporta nitrógeno amino hacia el carbamoil fosfato, un compuesto con un alto potencial de transferencia de grupo.

La carbamoil fosfato sintetasa I, la enzima limitante del ciclo de la urea, sólo es activa en presencia de ***N*-acetilglutamato**, un activador alostérico que aumenta la afinidad de la sintetasa por ATP. La síntesis de 1 mol de carbamoil fosfato requiere 2 mol de ATP. Un ATP sirve como donador del fosforilo para la formación del enlace anhídrido ácido mixto del carbamoil fosfato. El segundo ATP proporciona la fuerza impulsora para la síntesis del enlace amida del carbamoil fosfato. Los otros productos son 2 mol de ADP y 1 mol de P_i (reacción 1, figura 28-16). La reacción procede por pasos. La reacción de bicarbonato con ATP forma carbonil fosfato y ADP. A continuación el amoníaco desplaza al ADP, lo que forma carbamato y ortofosfato. La fosforilación de carbamato por el segundo ATP forma entonces carbamoil fosfato.

El carbamoil fosfato más ornitina forma citrulina

La **L-ornitina transcarbamoilasa** (EC 2.1.3.3) cataliza la transferencia del grupo carbamoilo del carbamoil fosfato hacia ornitina, lo que forma citrulina y ortofosfato (reacción 2, figura 28-16). Si bien la reacción sucede en la matriz mitocondrial, tanto la formación de ornitina como el metabolismo subsiguiente de citrulina tienen lugar en el citosol. Por ende, la entrada de ornitina hacia las mitocondrias, y el éxodo de citrulina desde estas últimas, comprenden permeasas de membrana interna mitocondrial (figura 28-16).

La citrulina más aspartato forman argininosuccinato

La **argininosuccinato sintetasa** (EC 6.3.4.5) enlaza aspartato y citrulina mediante el grupo amino del aspartato (reacción 3, figura 28-16), y proporciona el segundo nitrógeno de la urea. La reacción necesita ATP e incluye la formación intermedia de citrulil-AMP. El desplazamiento subsiguiente de AMP por aspartato a continuación forma argininosuccinato.

La división de argininosuccinato forma arginina y fumarato

La división del argininosuccinato es catalizada por la **argininosuccinato liasa** (EC 4.3.2.1). La reacción procede con retención de los tres nitrógenos en la arginina, y liberación del esqueleto aspartato como fumarato (reacción 4, figura 28-16). La adición subsiguiente de agua a fumarato forma L-malato, cuya oxidación dependiente de NAD+ subsiguiente lo convierte en oxaloacetato. Estas dos reacciones son análogas a las reacciones del ciclo del ácido cítrico (figura 17-3), pero son catalizadas por **la fumarasa y la malato deshidrogenasa *citosólicas***. La transaminación de oxaloacetato por la glutamato aminotransferasa a continuación vuelve a formar aspartato. De esta manera, el esqueleto de carbono del aspartato-fumarato actúa como un acarreador del nitrógeno de glutamato hacia un precursor de urea.

La división de arginina libera urea y vuelve a formar ornitina

La división hidrolítica del grupo guanidino de la arginina, catalizada por la **arginasa** (EC 3.5.3.1) hepática, libera urea (reacción 5, figura 28-16). El otro producto, la ornitina, vuelve a entrar a las mitocondrias hepáticas, y participa en rondas adicionales de síntesis de urea. La ornitina y la lisina son potentes inhibidores de la arginasa, y compiten con la arginina; esta última también funciona como un precursor del potente relajante muscular óxido nítrico (NO) en una reacción dependiente de Ca^{2+} catalizada por la NO sintasa.

La carbamoil fosfato sintetasa I es la enzima marcapasos del ciclo de la urea

La actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I está determinada por el *N*-acetilglutamato, cuya concentración de estado estable está dictada por el equilibrio entre su índice de síntesis a partir de acetil-CoA y glutamato, y su índice de hidrólisis hacia acetato y glutamato. Estas reacciones son catalizadas por la *N*-acetilglutamato sintasa (NAGS) y la *N*- acetilglutamato hidrolasa, respectivamente.

$$\text{Acetil-CoA} + \text{L-glutamato} \rightarrow \textit{N}\text{-acetil-L-glutamato} + \text{CoASH}$$

$$\textit{N}\text{-acetil-L-glutamato} + H_2O \rightarrow \text{L-glutamato} + \text{acetato}$$

Los cambios importantes en la dieta pueden incrementar 10 a 20 veces las cifras de enzimas individuales del ciclo de la urea. Por ejemplo, la inanición aumenta las concentraciones de enzimas, probablemente para afrontar el incremento de la producción de amoníaco que acompaña a la degradación aumentada de proteína inducida por inanición.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS TRASTORNOS METABÓLICOS

Los trastornos metabólicos comparativamente raros, pero bien caracterizados y devastadores desde el punto de vista médico, relacionados con las enzimas de la biosíntesis de la urea, ilustran los siguientes principios generales de las enfermedades metabólicas hereditarias:

1. Signos y síntomas clínicos similares o idénticos pueden caracterizar diversas mutaciones genéticas en un gen que codifica para una enzima dada, o en enzimas que catalizan reacciones sucesivas en una vía metabólica.
2. La terapia racional debe basarse en un entendimiento de las reacciones catalizadas por enzimas bioquímicas importantes en sujetos tanto normales como alterados.
3. La identificación de intermediarios y de productos auxiliares que se acumulan antes de un bloqueo metabólico proporciona la base para las pruebas para detectar trastornos metabólicos, y pueden indicar la reacción que está alterada.
4. El diagnóstico preciso requiere evaluación cuantitativa de la actividad de la enzima que se sospecha que es defectuosa.
5. La secuencia de DNA del gen que codifica para una enzima mutante dada se compara con la del gen tipo natural para identificar la o las mutaciones específicas que originan la enfermedad.
6. Con el aumento exponencial de la secuenciación de DNA de genes del humano se han identificado docenas de mutaciones de un gen afectado que son benignas o se asocian con síntomas de gravedad variable de un trastorno metabólico dado.

HAY TRASTORNOS METABÓLICOS RELACIONADOS CON CADA REACCIÓN DEL CICLO DE LA UREA

Se han descrito defectos en cada enzima del ciclo de la urea. Muchas de las mutaciones causales han sido "mapeadas" y se han identificado defectos específicos en las enzimas codificadas. Cinco enfermedades bien documentadas representan defectos de la biosíntesis de enzimas del ciclo de la urea. El análisis genético molecular ha identificado con exactitud los *loci* de mutaciones relacionadas con cada deficiencia, cada uno de los cuales muestra considerable variabilidad genética y fenotípica (**cuadro 28-1**).

CUADRO 28-1 Enzimas de trastornos metabólicos hereditarios del ciclo de la urea

Enzima	Número de catálogo de la enzima	Referencia OMIM[a]	Figura y reacción
Carbamoil-fosfatasa sintasa I	6.3.4.16	237300	28-13①
Ornitina carbamoil transferasa	2.1.3.3	311250	28-13②
Argininosuccinato sintasa	6.3.4.5	215700	28-13③
Argininosuccinato liasa	4.3.2.1	608310	28-13④
Arginasa	3.5.3.1	608313	28-13⑤

[a] Online Mendelian inheritance in man database: ncbi.nlm.nih.gov/omim/

Los trastornos del ciclo de la urea se caracterizan por hiperamonemia, encefalopatía y alcalosis respiratoria. Cuatro de las cinco enfermedades metabólicas, deficiencias de carbamoil fosfato sintetasa I, ornitina carbamoil transferasa, argininosuccinato sintasa y argininosuccinato liasa, suscitan la acumulación de precursores de urea, en especial amoníaco y glutamina. La intoxicación por amoníaco es más grave cuando el bloqueo metabólico ocurre en las reacciones 1 o 2 (figura 28-16), porque si puede sintetizarse citrulina, algo de amoníaco ya se ha eliminado al enlazarse de modo covalente a un metabolito orgánico.

Los síntomas clínicos comunes a todos los trastornos del ciclo de la urea comprenden vómitos, evitación de alimentos con alto contenido de proteína, ataxia intermitente, irritabilidad, letargo y retraso mental grave. La presentación clínica más notoria sucede en lactantes a término que en un inicio parecen normales pero luego muestran letargo progresivo, hipotermia y apnea debido a las cifras plasmáticas altas de amoníaco. Los datos clínicos y el tratamiento de los cinco trastornos son similares. Una dieta hipoproteínica ingerida como comidas frecuentes pequeñas con el fin de evitar incrementos repentinos de las concentraciones sanguíneas de amoníaco puede ir acompañada de mejoría y minimización del daño cerebral significativas. El objetivo de la dietoterapia es proporcionar suficiente proteína, arginina y energía para promover el crecimiento y desarrollo, mientras que al mismo tiempo se minimizan las perturbaciones metabólicas relacionadas con estas enfermedades.

Carbamoil fosfato sintetasa I

El *N*-acetilglutamato es esencial para la actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I (EC 6.3.4.16) (reacción 1, figura 28-16). Los defectos de esta enzima producen la enfermedad metabólica relativamente rara (frecuencia estimada, 1:62 000) denominada "hiperamonemia tipo 1".

N-acetilglutamato sintasa (NAGS) (EC 2.3.1.1)

Cataliza la formación, a partir de acetil-CoA y glutamato, del *N*-acetilglutamato esencial para la actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I.

L-Glutamato + acetil-CoA → N-acetil-L-glutamato + CoASH

Aunque las características clínicas y bioquímicas de la deficiencia de NAGS son indistinguibles de las que surgen por un defecto de la carbamoil fosfato sintetasa I, una deficiencia de NAGS puede mostrar respuesta al *N*-acetilglutamato administrado.

Ornitina permeasa

La hiperornitinemia, la hiperamonemia y el síndrome de homocitrulinuria **(síndrome HHH)** se producen por mutación del gen ORNT1 que codifica para la permeasa de ornitina de la membrana mitocondrial. El fracaso para importar ornitina citosólica hacia la matriz mitocondrial hace inoperable al ciclo de la urea, con hiperamonemia consiguiente, e hiperornitinemia debida a la acumulación acompañante de ornitina citosólica. En ausencia de su aceptor normal ornitina, el carbamoil fosfato mitocondrial carbamoila la lisina hacia homocitrulina, lo que ocasiona homocitrulinuria.

Ornitina transcarbamoilasa

La deficiencia enlazada al cromosoma X llamada "hiperamonemia tipo 2" refleja un defecto de la ornitina transcarbamoilasa (reacción 2, figura 28-16). Las madres también muestran hiperamonemia y aversión a los alimentos hiperproteínicos. Las cifras de glutamina están altas en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, probablemente como resultado de aumento de la síntesis de glutamina en respuesta a concentraciones altas de amoníaco hístico.

Argininosuccinato sintetasa

Además de los enfermos que carecen de actividad detectable de esta enzima (reacción 3, figura 28-16), se ha informado un incremento de 25 veces de la K_m para citrulina. En la citrulinemia resultante, las cifras de citrulina en el plasma y el líquido cefalorraquídeo están altas, y se excretan 1 a 2 g de citrulina a diario.

Argininosuccinato liasa

La argininosuccinicaciduria, acompañada de concentraciones altas de argininosuccinato en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, se relaciona con pelo friable y deshilachado en el extremo (tricorrexis nodosa). Se conocen tipos de inicio tanto temprano como tardío. El defecto metabólico yace en la argininosuccinato liasa (reacción 4, figura 28-16). El diagnóstico basado en la medición de la actividad de argininosuccinato liasa en los eritrocitos puede efectuarse en sangre de cordón umbilical o en células de líquido amniótico.

Arginasa

La hiperargininemia es un defecto autosómico recesivo en el gen que codifica para la arginasa (reacción 5, figura 28-16). Al contrario de otros trastornos del ciclo de la urea, los primeros síntomas de hiperargininemia típicamente no aparecen sino hasta los 2 a 4 años de edad. Las cifras de arginina en la sangre y el líquido

cefalorraquídeo están altas. El modelo de aminoácidos urinario, que semeja el de la lisina-cistinuria (capítulo 29), quizá refleje competencia por la arginina con lisina y cisteína para resorción en el túbulo renal.

El análisis de sangre del recién nacido mediante espectrometría de masa en tándem puede detectar enfermedades metabólicas

Las enfermedades metabólicas dependientes de falta o deterioro funcional de enzimas metabólicas pueden ser devastadoras. Empero, la intervención temprana respecto a la dieta casi siempre puede disminuir los efectos ominosos que de otra manera son inevitables. De este modo, la detección temprana de esas enfermedades metabólicas tiene importancia primaria. Desde que en EU iniciaron los programas de detección durante el decenio de 1960-1969, en todos los Estados de ese país ahora se llevan a cabo pruebas de detección de enfermedades metabólicas en recién nacidos, aun cuando el alcance de las pruebas de detección empleadas varía entre uno y otro. La poderosa y sensible técnica de **espectrometría de masa en tándem** (capítulo 4) puede detectar en algunos minutos más de 40 analitos de importancia en la detección de trastornos metabólicos. En casi todo el territorio estadounidense se emplea la MS (espectometría de masa) en tándem para investigar a recién nacidos con el objeto de detectar trastornos metabólicos, como acidemias orgánicas, aminoacidemias, trastornos de la oxidación de ácidos grasos, y defectos de las enzimas del ciclo de la urea. En un artículo en *Clinical Chemistry* 2006 39:315 se revisa la teoría de la MS en tándem, su aplicación a la detección de trastornos metabólicos, y situaciones que pueden dar resultados positivos falsos, e incluye un cuadro grande de analitos detectables, y las enfermedades metabólicas importantes.

¿La terapia génica resulta promisoria para corregir defectos de la biosíntesis de la urea?

La terapia génica de defectos de las enzimas del ciclo de la urea es un área de investigación activa. A pesar de haberse obtenido resultados estimulantes en modelos en animales, por ejemplo, el uso de un vector adenoviral para tratar citrulinemia, en la actualidad la terapia génica no proporciona una solución eficaz para humanos.

RESUMEN

- Los humanos degradan 1 a 2% de su proteína corporal a diario, a índices que varían entre las proteínas y con el estado fisiológico. Las enzimas reguladoras clave a menudo tienen vida media breve.
- Las proteínas se degradan por medio de vías tanto dependientes, como independientes, de ATP. La ubiquitina establece como objetivo muchas proteínas intracelulares para degradación. Los receptores de superficie celular hepáticos se unen a asialoglucoproteínas circulantes destinadas para degradación lisosómica y las internalizan.
- Las proteínas poliubiquitinadas son degradadas por proteasas en la superficie interna de una macromolécula cilíndrica, el proteasoma. La entrada al proteasoma tiene un poro de proteína en forma de dona (rosquilla) que funciona como compuerta, que rechaza la entrada a todas las proteínas salvo las poliubiquitinadas.
- Los peces excretan de manera directa el muy tóxico NH_3. Las aves convierten el NH_3 en ácido úrico. Los vertebrados superiores convierten el NH_3 en urea.
- La transaminación canaliza el nitrógeno de aminoácidos hacia glutamato. La L-glutamato deshidrogenasa (GDH) ocupa una posición fundamental en el metabolismo del nitrógeno.
- La glutamina sintetasa convierte el NH_3 en glutamina no tóxica. La glutamina libera NH_3 para uso en la síntesis de urea.
- El NH_3, el CO_2 y el nitrógeno amida del aspartato proporcionan los átomos de la urea.
- La síntesis de urea en el hígado tiene lugar en parte en la matriz mitocondrial, y en parte en el citosol.
- Los cambios de las concentraciones de enzima y la regulación alostérica de la carbamoil fosfato sintasa I por *N*-acetilglutamato regulan la biosíntesis de la urea.
- Las enfermedades metabólicas se relacionan con defectos en cada enzima del ciclo de la urea, de la permeasa de ornitina relacionado con membrana, y de la NAGS.
- Los trastornos metabólicos de la biosíntesis de la urea ilustran seis principios generales de todos los trastornos metabólicos.
- La MS en tándem es la mejor técnica para efectuar pruebas de detección de enfermedades metabólicas hereditarias en recién nacidos.

REFERENCIAS

Adam S, Almeida MF, Assoun M *et al*: Dietary management of urea cycle disorders: European practice. Mol Genet Metab 2013;110:439.

Caldovic L, Morizono H, Tuchman M: Mutations and polymorphisms in the human *N*-acetylglutamate synthase (NAGS) gene. Hum Mutat 2007;28:754.

Crombez EA, Cederbaum SD: Hyperargininemia due to liver arginase deficiency. Mol Genet Metab 2005;84:243.

Elpeleg O, Shaag A, Ben-Shalom E, *et al*: *N*-acetylglutamate synthase deficiency and the treatment of hyperammonemic encephalopathy. Ann Neurol 2002;52:845.

Garg U, Dasouki M: Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry. Clinical and laboratory aspects. Clin Biochem 2006;39:315.

Gyato K, Wray J, Huang ZJ, *et al*: Metabolic and neuropsychological phenotype in women heterozygous for ornithine transcarbamylase deficiency. Ann Neurol 2004;55:80.

Häberle J, Görg B, Rutsch F, *et al*: Congenital glutamine deficiency with glutamine synthetase mutations. N Engl J Med 2005;353:1926.

Häberle J, Pauli S, Schmidt E, *et al*: Mild citrullinemia in caucasians is an allelic variant of argininosuccinate synthetase deficiency (citrullinemia type 1). Mol Genet Metab 2003;80:302.

Jiang YH, Beaudet AL: Human disorders of ubiquitination and proteasomal degradation. Curr Opin Pediatr 2004;16:419.

Pal A, Young MA, Donato NJ: Emerging potential of therapeutic targeting of ubiquitin-specific proteases in the treatment of cancer. Cancer Res 2014;14:721.

Pickart CM: Mechanisms underlying ubiquitination. Annu Rev Biochem 2001;70:503.

Scriver CR: Garrod's foresight; our hindsight. J Inherit Metab Dis 2001;24:93.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Sylvestersen KB, Young C, Nielsen ML: Advances in characterizing ubiquitylation sites by mass spectrometry. Curr Opin Chem Biol 2013;17:49.

Yi JJ, Ehlers MD: Emerging roles for ubiquitin and protein degradation in neuronal function. Pharmacol Rev 2007;59:206.

CAPÍTULO 29

Catabolismo de los esqueletos de carbono de aminoácidos

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Nombrar los principales catabolitos de los esqueletos de carbono de los aminoácidos comunes y los principales destinos metabólicos de estos catabolitos.
- Escribir una ecuación para una reacción de aminotransferasa (transaminasa), e ilustrar la función que desempeña la coenzima.
- Esbozar las vías metabólicas para cada uno de los aminoácidos comunes, e identificar reacciones asociadas con trastornos metabólicos importantes en clínica.
- Proporcionar ejemplos de aminoacidurias que surgen por defectos de la resorción tubular glomerular, y las consecuencias de la absorción intestinal alterada de triptófano.
- Explicar por qué defectos metabólicos en diferentes enzimas del catabolismo de un aminoácido específico pueden relacionarse con signos y síntomas clínicos similares.
- Describir las implicaciones de un defecto metabólico en Δ^1 pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa para el catabolismo de la prolina y de la 4-hidroxiprolina.
- Explicar cómo el nitrógeno α-amino de la prolina y de la lisina es eliminado mediante procesos que no son transaminación.
- Hacer analogías entre las reacciones que participan en el catabolismo de ácidos grasos y de aminoácidos de cadena ramificada.
- Identificar los defectos metabólicos específicos en la hipervalinemia, la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, cetonuria de cadena ramificada intermitente, acidemia isovalérica y aciduria metilmalónica.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FUNDADA EN 1620
QUITO

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En el capítulo 28 se describieron la eliminación por transaminación y el destino metabólico de los átomos de nitrógeno de casi todos los L-α-aminoácidos de proteína. En este capítulo se abordan los destinos metabólicos de los esqueletos de hidrocarburo resultantes de cada uno de los aminoácidos de proteína. Los tópicos comprenden las enzimas, los intermediarios formados durante el catabolismo de los esqueletos de carbono hacia intermediarios anfibólicos, y varias enfermedades metabólicas o "errores congénitos del metabolismo" asociados. Si bien casi todos los trastornos del catabolismo de aminoácidos son raros, pero si se dejan sin tratamiento pueden dar lugar a daño cerebral irreversible y mortalidad temprana. Así, la detección prenatal o posnatal temprana de trastornos metabólicos, y el inicio oportuno de tratamiento son esenciales. La capacidad para detectar las actividades de enzimas en células de líquido amniótico cultivadas facilita el diagnóstico prenatal mediante amniocentesis. En todos los Estados de EU ahora se realizan pruebas de detección en recién nacidos para más de 40 enfermedades metabólicas. Estas pruebas incluyen —pero no se limitan a— trastornos asociados con defectos del catabolismo de aminoácidos. En las pruebas de detección más fiables se usa espectrometría de masa en tándem para detectar, en algunas gotas de sangre del recién nacido, catabolitos sugestivos de un defecto metabólico dado. Los metabolitos detectados identifican con precisión el defecto metabólico como la disminución de la actividad de una enzima dada o la falta de la misma. El tratamiento consta principalmente de dietas bajas en el aminoácido cuyo catabolismo está alterado.

Las mutaciones de un gen o de regiones reguladoras asociadas de DNA pueden dar por resultado fracaso para sintetizar la enzima codificada, o la síntesis de una enzima parcialmente o por com-

pleto no funcional. Si bien algunas mutaciones no tienen efectos adversos sobre la actividad de enzima, las mutaciones que comprenden la estructura tridimensional de una enzima, o que alteran sitios catalíticos o reguladores de una enzima, pueden tener consecuencias metabólicas graves. La eficiencia catalítica baja de una enzima mutante puede depender de posición alterada de residuos involucrados en la catálisis, o en la unión a un sustrato, coenzima o ion metálico. Las mutaciones también pueden alterar la capacidad de ciertas enzimas para mostrar respuesta apropiada a las señales que modulan su actividad al alterar la afinidad de una enzima por un regulador de actividad alostérico. Dado que diferentes mutaciones pueden tener efectos similares sobre cualquiera de los factores anteriores, diversas mutaciones pueden dar lugar a los mismos signos y síntomas clínicos. Por ende, en el ámbito molecular, estas son enfermedades moleculares separadas. Para complementar el estudio de los trastornos del metabolismo de aminoácidos que se comentan en este capítulo, los lectores deben consultar obras de referencia importantes sobre este tema, como Scriver y colaboradores, 2001.

LOS AMINOÁCIDOS SON CATABOLIZADOS HACIA INTERMEDIARIOS PARA LA BIOSÍNTESIS DE CARBOHIDRATO Y LÍPIDO

En estudios nutricionales efectuados durante el período de 1920 a 1940, reforzados y confirmados por estudios realizados de 1940 a 1950 en los que se usaron aminoácidos marcados con isótopos, se estableció la interconvertibilidad de los átomos de carbono de grasa, carbohidrato y proteína. Estos estudios también revelaron que todo el esqueleto de carbono de cada aminoácido, o una porción del mismo, es convertible en carbohidrato (13 aminoácidos), grasa (un aminoácido), o tanto grasa como carbohidrato (cinco aminoácidos) (cuadro 29-1). En la **figura 29-1** se esbozan aspectos generales de estas interconversiones.

CUADRO 29-1 Destino de los esqueletos de carbono de los L-α-aminoácidos comunes.

Convertido en intermediarios anfibólicos que forman			
Carbohidratos (glucogénicos)		**Grasa (cetogénico)**	**Glucógeno y grasa (glucogénico y cetogénico)**
Ala	Hip	Leu	Ile
Arg	Met		Lis
Asp	Pro		Fen
Cis	Ser		Trp
Glu	Tre		Tir
Gli	Val		
His			

LA TRANSAMINACIÓN TÍPICAMENTE INICIA EL CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS

La eliminación de nitrógeno α-amino por transaminación, catalizada por una aminotransferasa (una transaminasa; figura 28-9), es la primera reacción catabólica de casi todos los aminoácidos de proteína. Las excepciones son la prolina, hidroxiprolina, treonina y lisina, cuyos grupos α-amino no participan en la transaminación. A continuación, los esqueletos de hidrocarburo que quedan son degradados hacia intermediarios anfibólicos (figura 29-1)

La asparagina y el aspartato forman oxaloacetato

Los cuatro carbonos de la asparagina y del aspartato forman **oxaloacetato** mediante reacciones catalizadas por la **asparaginasa** (EC 3.5.1.1) y una **transaminasa** (**figura 29-2**, arriba). Los

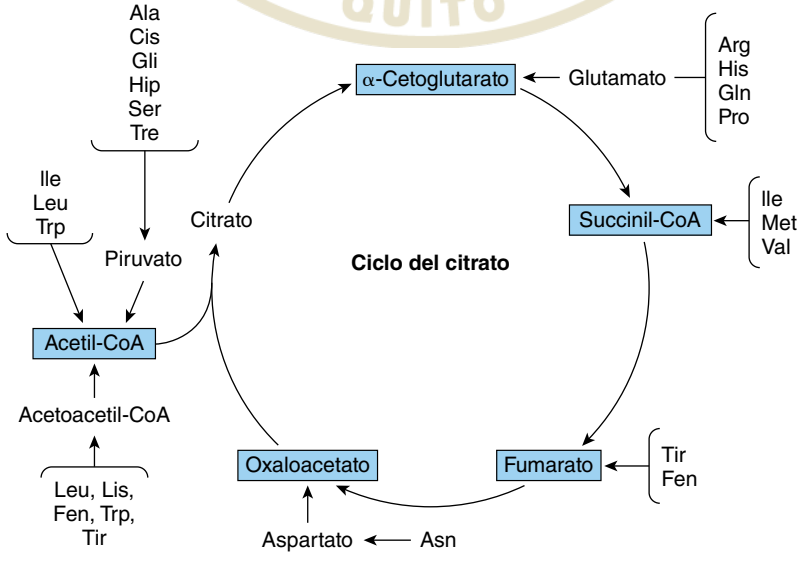


FIGURA 29-1 Perspectiva general de los intermediarios anfibólicos que se producen por catabolismo de los aminoácidos comunes.

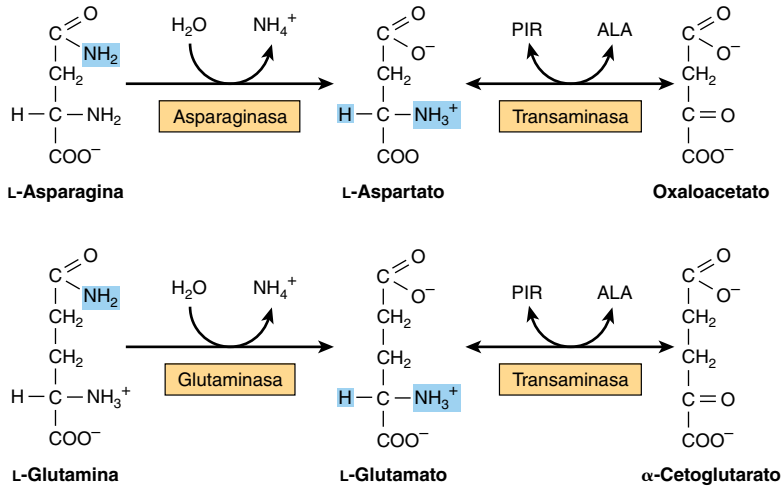


FIGURA 29-2 Catabolismo a intermediarios anfibólicos de la L-asparagina (*arriba*) y la L-glutamina (*abajo*). (ALA, L-alanina, PIR, piruvato). En esta figura y en figuras subsiguientes, las partes resaltadas en azul recalcan las porciones de las moléculas que están pasando por cambio químico.

defectos metabólicos en transaminasas, que satisfacen funciones anfibólicas fundamentales, pueden ser incompatibles con la vida. En consecuencia, ningún defecto metabólico conocido se asocia con esta vía catabólica corta.

La glutamina y el glutamato forman α-cetoglutarato

El catabolismo de la glutamina y del glutamato corre parejo con el de la asparagina y el aspartato en reacciones catalizadas por **glutaminasa** (EC 3.5.1.2) y **transaminasa** que forman **α-cetoglutarato** (**figura 29-2**, abajo). Si bien el glutamato y aspartato son sustratos para la misma transaminasa, la desaminación de sus amidas correspondientes es catalizada por diferentes enzimas: asparaginasa y glutaminasa. Posiblemente por la razón antes mencionada, no hay defectos metabólicos conocidos de la vía catabólica de la glutamina-glutamato.

Sin embargo, trastornos metabólicos importantes se asocian con el catabolismo de muchos otros aminoácidos. Estos trastornos, que se comentan bajo el catabolismo de cada aminoácido, se resumen en el **cuadro 29-2**. En este cuadro se listan la enzima alterada, su número de catálogo de enzima (EC) IUB, una referencia cruzada a una figura y una reacción numerada específica en este texto, y un enlace a la base de datos Online Mendelian Inheritance in Man **(OMIM)**.

Prolina

El catabolismo de la prolina tiene lugar en las mitocondrias. Dado que la prolina no participa en la transaminación, su nitrógeno α-amino es retenido de principio a fin de una oxidación de dos etapas a glutamato. La oxidación a Δ^1-pirrolina-5-carboxilato es catalizada por la prolina deshidrogenasa, EC 1.5.99.8. La oxidación subsiguiente a glutamato es catalizada por la Δ^1-pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa (también llamada glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa, EC 1.5.1.12) (**figura 29-3**). Hay dos trastornos metabólicos del catabolismo de la prolina. Ambos tipos se heredan como rasgos autosómicos recesivos, y son congruentes con una vida adulta normal. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo I** está en la **prolina** deshidrogenasa. No hay deterioro relacionado del catabolismo de la hidroxiprolina. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo II** está en la Δ^1 pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa una enzima de la matriz mitocondrial que también participa en el catabolismo de la arginina, ornitina e hidroxiprolina (véase más adelante). Puesto que hay afección del catabolismo tanto de la prolina como de la hidroxiprolina, se excretan tanto Δ^1-pirrolina-5-carboxilato como Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato (figura 29-12).

Arginina y ornitina

Las reacciones iniciales en el catabolismo de la arginina son conversión de ornitina seguida por transaminación de ornitina a glutamato-γ-semialdehído (**figura 29-4**). El catabolismo subsiguiente de este último a **α-cetoglutarato** ocurre como se describió para la prolina (figura 29-3). Las mutaciones en la **ornitina δ-aminotransferasa** (ornitina transaminasa, EC 2.6.1.13) aumentan las concentraciones plasmática y urinaria de ornitina y se asocian con **atrofia girada de la coroides y la retina**. El tratamiento comprende restringir la arginina en la dieta. En el **síndrome de hiperornitinemia-hiperamonemia**, un **antiportador de ornitina-citrulina** mitocondrial defectuoso (figura 28-6) altera el transporte de la ornitina hacia mitocondrias donde participa como un intermediario para uso en la síntesis de urea.

Histidina

El catabolismo de la histidina procede mediante el urocanato, 4-imidazolona-5-propionato, y *N*-formiminoglutamato (Figlu). La transferencia del grupo formimino hacia el tetrahidrofolato forma glutamato, y luego **α-cetoglutarato** (**figura 29-5**). En la deficiencia de ácido fólico, la transferencia del grupo formimino está alterada, y se excreta Figlu. Así, la excreción de Figlu después de una dosis de histidina puede usarse para detectar deficiencia de ácido fólico. Los trastornos benignos del catabolismo de la histidina son la **histidinemia** y la **aciduria urocánica** relacionadas con **histidasa** alterada.

CUADRO 29-2 Enfermedades metabólicas del metabolismo de aminoácidos.

Enzima defectuosa	Número de catálogo de enzima	Referencia de la OMIM[a]	Principales signos y síntomas	Figura y reacción
S-Adenosilhomocisteína hidrolasa	3.3.1.1	180960	Hipermetioninemia	29-19 ③
Arginasa	3.5.3.1	207800	Argininemia	29-4 ①
Cistationina-β-sintasa	4.2.1.22	236200	Homocistinuria	29-19 ④
Fumarilacetoacetato hidrolasa	3.7.1.12	276700	Tirosinemia tipo I (tirosinosis)	29-13 ④
Glicina *N*-metil-transferasa	2.1.1.20	606664	Hipermetioninemia	29-13 ②
Histidina amoniaco liasa (histidasa)	4.3.1.3	609457	Histidinemia y acidemia urocánica	29-5 ①
Homogentisato oxidasa	1.13.11.5	607474	Alcaptonuria. Excreción de homogentisato	29-13 ③
p-Hidroxifenilpiruvato hidroxilasa	1.13.11.27	276710	Tirosinemia neonatal	29-13 ③
Isovaleril-CoA dehidrogenasa	1.3.99.10	607036	Acidemia isovalérica	29-20 ③
Complejo de α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada		248600	Cetonuria de cadena ramificada (MSUD)	29-20 ①
Metionina adenosiltransferasa	2.5.1.6	250850	Hipermetioninemia	29-18 ①
Ornitina-6-aminotransferasa	2.6.1.13	258870	Ornitemia, atrofia girada	29-4 ②
Fenilalanina hidroxilasa	1.14.16.1	261600	Fenilcetonuria tipo I (clásica)	27-10 ①
Prolina dehidrogenasa	1.5.99.8	606810	Hiperprolinemia tipo I	29-3 ①
Δ^1-Pirrolina-5-carboxilato dehidrogenasa	1.5.1.12	606811	Hiperprolinemia tipo II e hiper 4-hidroxiprolinemia	29-3 ②
Sacaropina dehidrogenasa	1.5.1.7	268700	Sacaropinuria	29-15 ②
Tirosina aminotransferasa	2.6.1.15	613018	Tirosinemia tipo II	29-13 ①

[a] Base de datos de Online Mendelian Inheritance in Man: ncbi.nlm.nih.gov/omim/

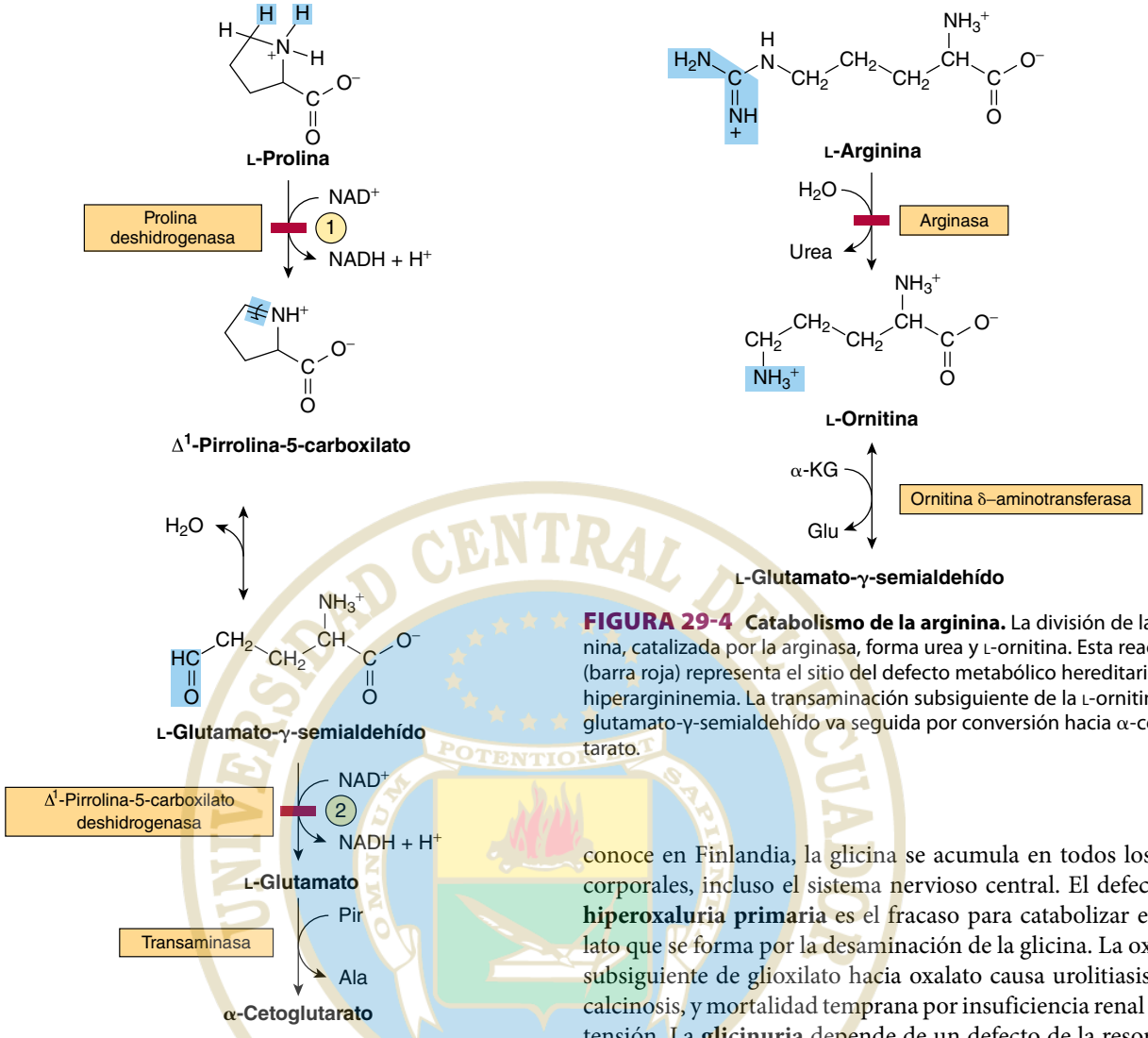


FIGURA 29-3 **Catabolismo de la prolina.** Las barras de color rojo y los números en un círculo indican el *locus* de los defectos metabólicos hereditarios en la ① hiperprolinemia tipo I y ② hiperprolinemia tipo II.

FIGURA 29-4 **Catabolismo de la arginina.** La división de la L-arginina, catalizada por la arginasa, forma urea y L-ornitina. Esta reacción (barra roja) representa el sitio del defecto metabólico hereditario en la hiperargininemia. La transaminación subsiguiente de la L-ornitina hacia glutamato-γ-semialdehído va seguida por conversión hacia α-cetoglutarato.

CATABOLISMO DE LA GLICINA, SERINA, ALANINA, CISTEÍNA, TREONINA Y 4-HIDROXIPROLINA

Glicina

El **complejo de división de glicina** de las mitocondrias hepáticas divide la glicina en CO_2 y NH_4^+, y forma N^5, N^{10}-metileno-tetrahidrofolato.

$$\text{Glicina} + \text{H}_4\text{ folato} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{NH}_3 + 5{,}10\text{-CH}_2\text{-H}_4\text{ folato} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

El sistema de división de glicina (**figura 29-6**) consta de tres enzimas, y una "proteína H" que tiene una porción dihidrolipoilo fija de modo covalente. En la figura 29-6 también se ilustran las reacciones individuales y los intermediarios en la división de la glicina. En la **hiperglicinemia no cetótica**, un raro error congénito de la degradación de la glicina que hoy únicamente se conoce en Finlandia, la glicina se acumula en todos los tejidos corporales, incluso el sistema nervioso central. El defecto en la **hiperoxaluria primaria** es el fracaso para catabolizar el glioxilato que se forma por la desaminación de la glicina. La oxidación subsiguiente de glioxilato hacia oxalato causa urolitiasis, nefrocalcinosis, y mortalidad temprana por insuficiencia renal o hipertensión. La **glicinuria** depende de un defecto de la resorción en los túbulos renales.

Serina

Después de conversión a glicina, catalizada por la glicina hidroximetiltransferasa (EC 2.1.2.1), el catabolismo de la serina se fusiona con el de la glicina (**figura 29-7**).

Alanina

La transaminación de α-alanina forma piruvato. Probablemente a causa de su participación fundamental en el metabolismo, no hay un defecto metabólico conocido del catabolismo de la α-alanina.

Cistina y cisteína

La cistina es reducida primero hacia cisteína por la **cistina reductasa** EC 1.8.1.6 (**figura 29-8**). A continuación dos vías convierten a la cisteína en piruvato (**figura 29-9**). Hay muchas anormalidades del metabolismo de la cisteína. La cistina, lisina, arginina y ornitina se excretan en la **cistina-lisinuria** (**cistinuria**), un defecto de la resorción renal de estos aminoácidos. Salvo por la formación de cálculos de cistina, la cistinuria es benigna. El disulfuro mixto de la L-cisteína y la L-homocisteína (**figura**

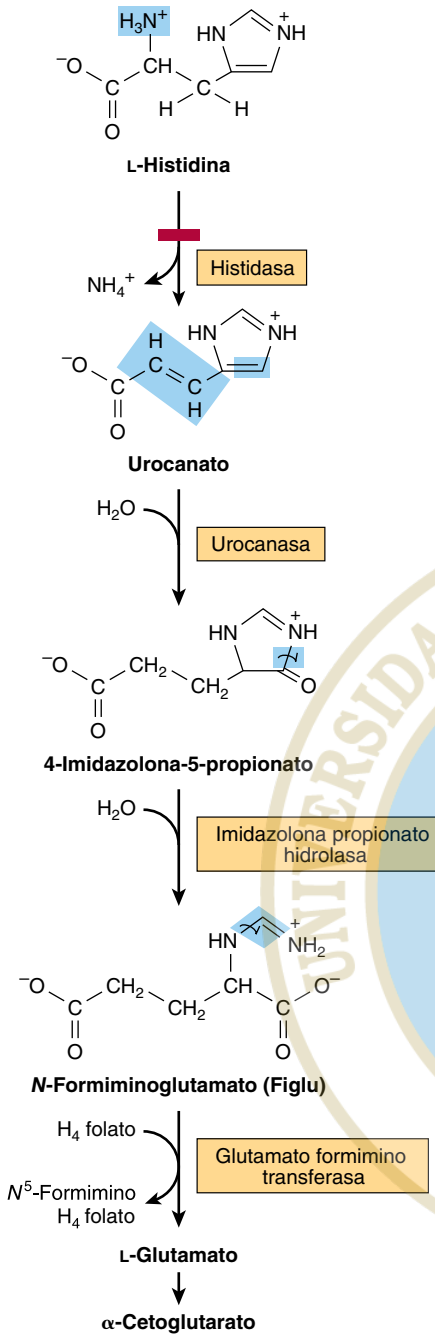


FIGURA 29-5 **Catabolismo de L-histidina hacia α-cetoglutarato.** (H_4 folato, tetrahidrofolato). La barra roja indica el sitio de un defecto metabólico hereditario.

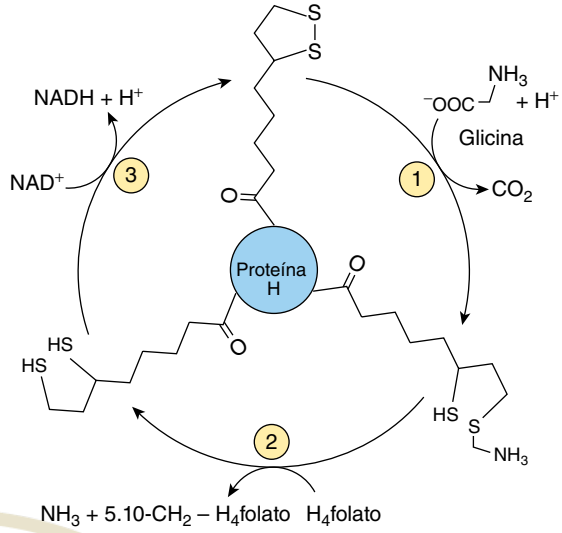


FIGURA 29-6 **El sistema de división de glicina de las mitocondrias hepáticas.** El complejo de división de glicina consta de tres enzimas y una "proteína H" que tiene dihidrolipoato fijo de modo covalente. Los catalíticos para las reacciones numeradas son ① glicina deshidrogenasa (descarboxilante), ② una aminometiltransferasa formadora de amoníaco, y ③ dihidrolipoamida deshidrogenasa. (H_4 folato, tetrahidrofolato).

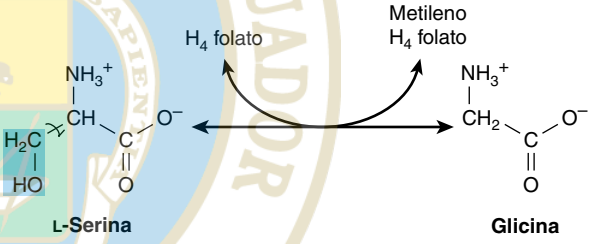


FIGURA 29-7 **Interconversión de serina y glicina por la serina hidroximetiltransferasa.** (H_4 folato, tetrahidrofolato).

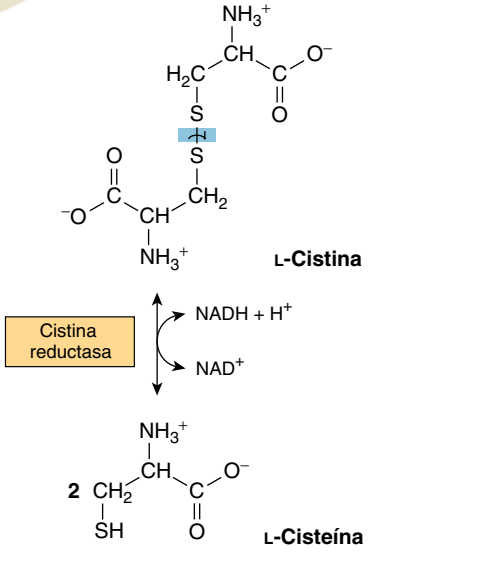


FIGURA 29-8 **Reducción de cistina cisteína en la reacción de la cistina reductasa.**

29-10) excretado por pacientes cistinúricos es más soluble que la cistina, y reduce la formación de cálculos de esta última.

Varios defectos metabólicos ocasionan **homocistinurias** con o sin capacidad de respuesta a la vitamina B_6. Estos incluyen una deficiencia de la reacción catalizada por la cistationina β-sintasa, EC 4.2.1.22:

$$\text{Serina} + \text{homocisteína} \rightarrow \text{cistationina} + H_2O$$

Las consecuencias son osteoporosis y retraso mental. El transporte mediado por acarreador, defectuoso, de cistina, da por re-

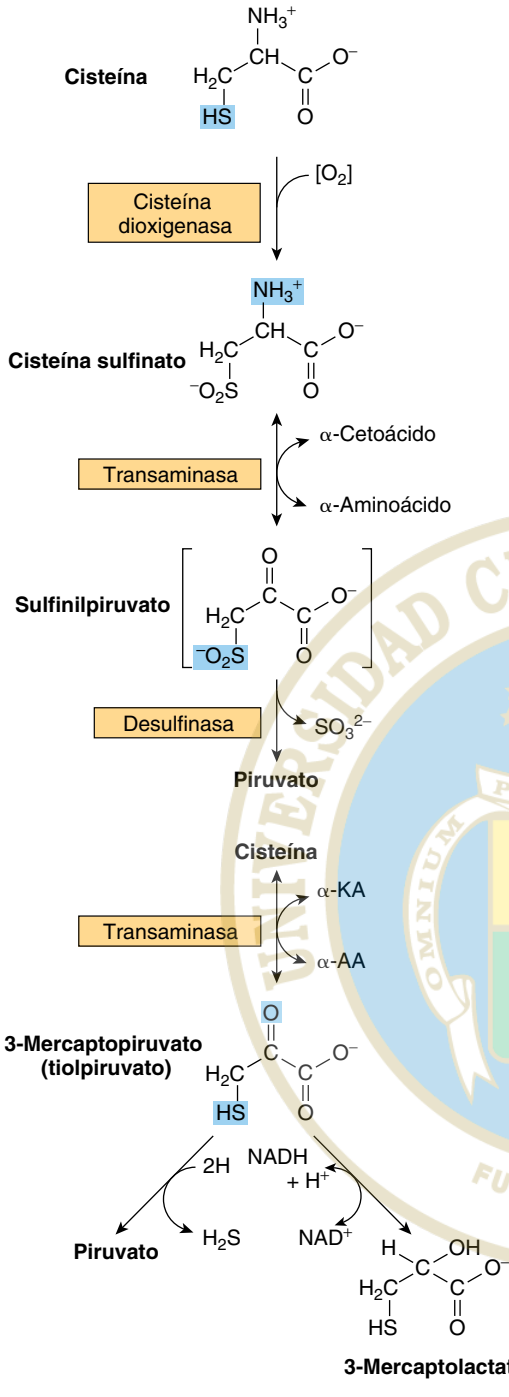


FIGURA 29-9 **Dos vías catabolizan la L-cisteína: la vía de la sulfinato cisteína (*arriba*) y la vía del 3-mercaptopiruvato (*abajo*).**

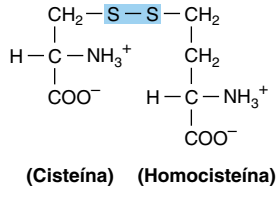


FIGURA 29-10 **Estructura del disulfuro mixto de la cisteína y la homocisteína.**

sultado **cistinosis (enfermedad por depósito de cistina)** con depósito de cristales de cistina en los tejidos, y muerte temprana por insuficiencia renal aguda. Datos epidemiológicos y de otros tipos enlazan a las concentraciones plasmáticas de homocisteína con el riesgo cardiovascular, pero persisten las controversias acerca de la participación de la homocisteína como un factor de riesgo cardiovascular causal.

Treonina

La treonina aldolasa (EC 4.1.2.5) divide la treonina hacia acetaldehído y glicina. Ya se comentó en el catabolismo de la glicina. La oxidación del acetaldehído hacia acetato va seguida por formación de acetil-CoA (**figura 29-11**).

4-Hidroxiprolina

El catabolismo de la 4-hidroxi-L-prolina forma, de manera sucesiva, L-Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato, γ-hidroxi-L-glutamato-γ-semialdehído, eritro-γ-hidroxi-L-glutamato, y α-ceto-γ-hidroxiglutarato. A continuación una división tipo aldol forma glioxilato más piruvato (**figura 29-12**). Un defecto de la **4-hidroxiprolina**

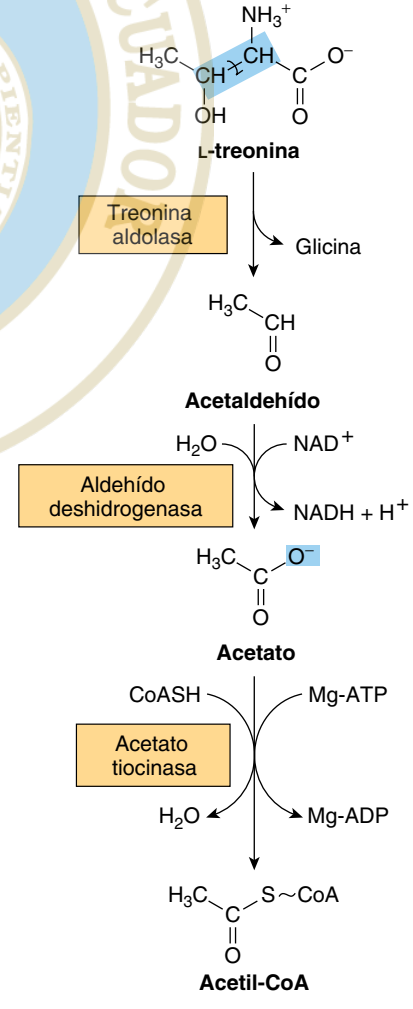


FIGURA 29-11 **Intermediarios en la conversión de treonina en glicina y acetil-CoA.**

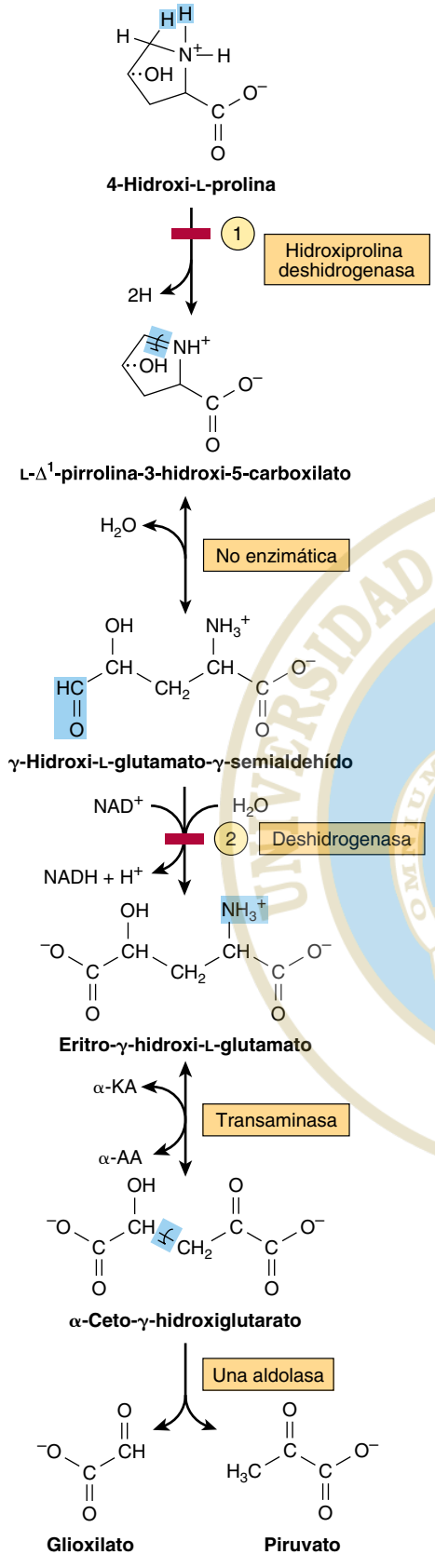


FIGURA 29-12 Intermediarios en el catabolismo de la hidroxiprolina. (α-AA, α-aminoácido; α-KA, α-cetoácido). Las barras rojas indican los sitios de los defectos metabólicos hereditarios en la ① hiperhidroxiprolinemia y ② hiperprolinemia tipo II.

deshidrogenasa origina **hiperhidroxiprolinemia**, que es benigna. No hay deterioro relacionado del catabolismo de la prolina. Como se mencionó en la sección sobre prolina, un defecto de la glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa se acompaña de excreción de Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato.

OTROS AMINOÁCIDOS QUE FORMAN ACETIL-CoA

Tirosina

En la **figura 29-13** se ilustran los intermediarios y las enzimas que participan en el catabolismo de la tirosina hacia intermediarios anfibólicos. Después de transaminación de tirosina hacia *p*-hidroxifenilpiruvato, reacciones sucesivas forman maleilacetoacetato, fumarilacetoacetato, fumarato, acetoacetato, y finalmente acetil-CoA y acetato.

Varios trastornos metabólicos se asocian con la vía catabólica de la tirosina. El defecto metabólico probable en la **tirosinemia tipo I (tirosinosis)** está en la **fumarilacetoacetato hidrolasa,** EC 3.7.1.12 (reacción 4, figura 29-13). En la terapia se emplea una dieta baja en tirosina y fenilalanina. La tirosinosis aguda y crónica no tratada conduce a muerte por insuficiencia hepática. Los metabolitos alternativos de la tirosina también se excretan en la **tirosinemia tipo II (síndrome de Richner-Hanhart)**, un defecto de la **tirosina aminotransferasa** (reacción 1, figura 29-13), y en la **tirosinemia neonatal**, debido a la actividad aminorada de la *p*-hidroxifenilpiruvato hidroxilasa, EC 1.13.11.27 (reacción 2, figura 29-13). En la terapia se emplea una dieta con bajo contenido de proteína.

El defecto metabólico en la **alcaptonuria** es un defecto en la **homogentisato oxidasa** (EC 1.13.11.5), la enzima que cataliza la reacción 3 de la figura 21-13. La orina se oscurece cuando queda expuesta al aire, debido a oxidación del homogentisato excretado. En etapas tardías de la enfermedad hay artritis y pigmentación del tejido conjuntivo (ocronosis) debido a oxidación de homogentisato hacia acetato de benzoquinona, que se polimeriza y se une al tejido conjuntivo. Descrita por vez primera en el siglo XVI con base en la observación de que la orina se oscurecía con la exposición al aire, la alcaptonuria proporcionó la base para las ideas clásicas de sir Archibald Garrod a principios del siglo XX respecto a trastornos metabólicos hereditarios. Con base en la presencia de ocronosis, y en evidencia química, el caso más temprano conocido de alcaptonuria es su detección en 1967 en una momia egipcia que data de 1 500 a.C.

Fenilalanina

La fenilalanina es convertida primero en tirosina (figura 27-12). Las reacciones subsiguientes son las de la tirosina (figura 29-13). Las **hiperfenilalaninemias** surgen por defectos de la fenilalanina hidroxilasa EC 1.14.16.1 (**fenilcetonuria** [o **PKU**] **clásica**, **tipo I**, frecuencia de 1 por cada 10 000 nacimientos), de la dihidrobiopterina reductasa **(tipos II y III)**, o de la biosíntesis de la dihidrobiopterina **(tipos IV y V)** (figura 27-12). Se excretan metabolitos alternativos (**figura 29-14**). Una dieta con poca fenilalanina puede evitar el retraso mental propio de la PKU.

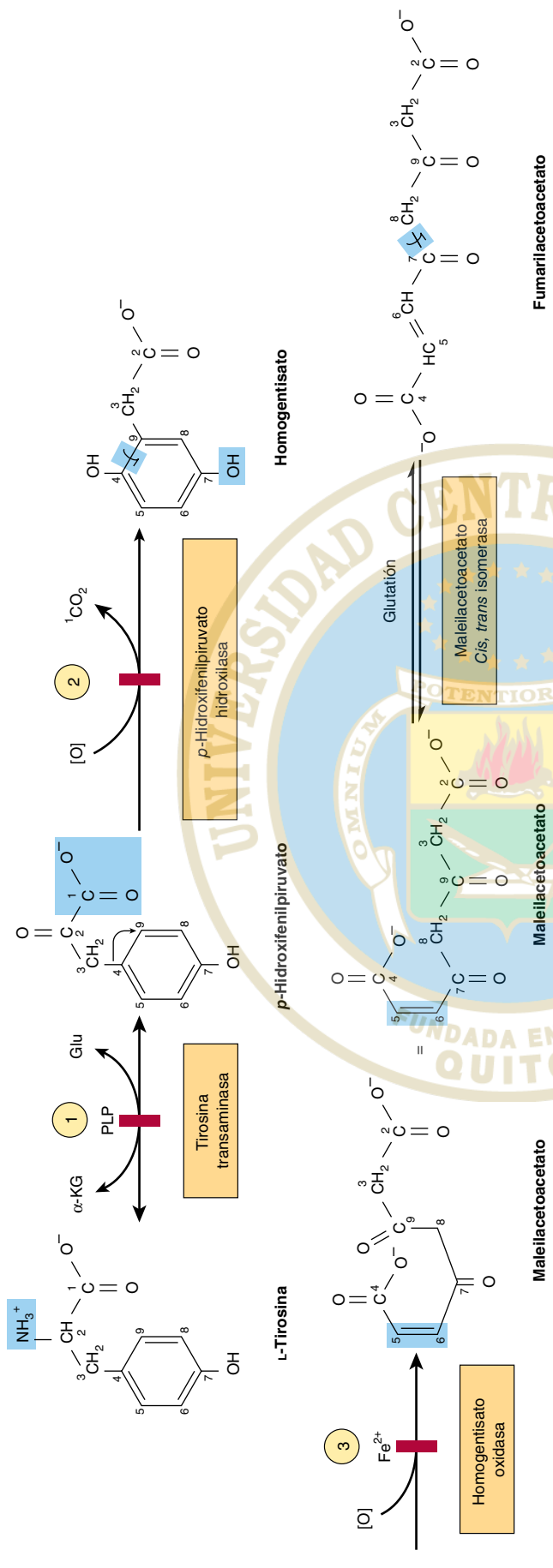


FIGURA 29-13 Intermediarios en el catabolismo de la tirosina. Los carbonos están numerados para recalcar su destino final. (α-KG, α-cetoglutarato; Glu, glutamato; PLP, fosfato de piridoxal). Las barras rojas indican los sitios probables de los defectos metabólicos hereditarios en ① la tirosinemia tipo II; ② tirosinemia neonatal; ③ alcaptonuria, y ④ tirosinemia tipo I, o tirosinosis.

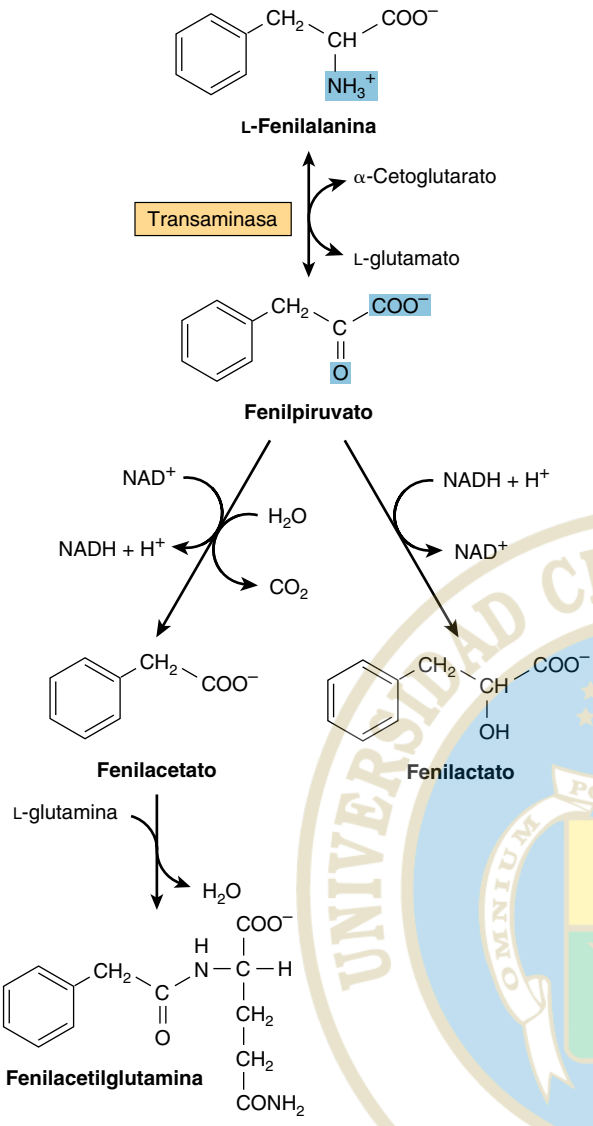


FIGURA 29-14 Vías alternativas del catabolismo de la fenilalanina en la fenilcetonuria. Las reacciones también suceden en el tejido hepático normal, pero tienen importancia menor.

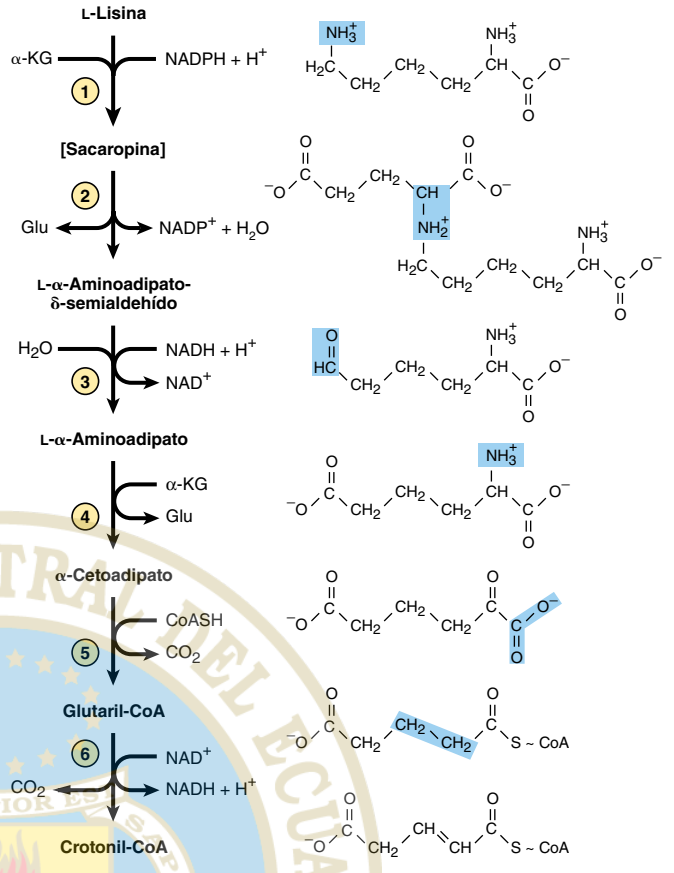


FIGURA 29-15 Reacciones e intermediarios en el catabolismo de la L-lisina.

Las sondas de DNA facilitan el diagnóstico prenatal de defectos de la fenilalanina hidroxilasa o de la dihidrobiopterina reductasa. Las cifras sanguíneas altas de fenilalanina pueden no ser detectables sino hasta 3 a 4 días después del nacimiento. Los resultados positivos falsos en prematuros pueden reflejar retraso de la maduración de las enzimas del catabolismo de la fenilalanina. En una prueba de detección más antigua y menos fiable se emplea $FeCl_3$ para detectar fenilpiruvato urinario. El análisis de la orina de recién nacidos con $FeCl_3$, para detección de PKU, es obligatorio en muchos países, pero en Estados Unidos ha quedado suplantado en su mayor parte por la espectrometría de masa en tándem.

Lisina

Las primeras seis reacciones del catabolismo de la L-lisina en el hígado humano forman la crotonil-CoA, que luego se degrada hacia acetil-CoA y CO_2 por medio de las reacciones del catabolismo de ácidos grasos (capítulo 22). A partir de aquí, los números en círculo aluden a las reacciones numeradas correspondientes de la **figura 29-15**. Las reacciones 1 y 2 convierten la base de Schiff que se forma entre α-cetoglutarato y el grupo ε-amino de la lisina en L-α-aminoadipato-δ-semialdehído. Las reacciones tanto 1 como 2 son catalizadas por una enzima bifuncional única, la aminoadipato semialdehído sintasa (EC 1.5.1.8) cuyos dominios *N* terminal y *C* terminal contienen actividad de lisina-α-cetoglutarato reductasa y de sacaropina deshidrogenasa, respectivamente. La reducción de L-α-aminoadipato-δ-semialdehído hacia L-α-aminoadipato (reacción 3) va seguida por transaminación hacia α-cetoadipato (reacción 4). La conversión en el tioéster glutaril-CoA (reacción 5) va seguida por la descarboxilación de glutaril-CoA hacia crotonil-CoA (reacción 6). Las reacciones subsiguientes son las del catabolismo de ácidos grasos.

La hiperlisinemia puede ser el resultado de un defecto metabólico de la actividad 1 o 2 de la enzima bifuncional aminoadipato semialdehído sintasa, pero esto se acompaña de concentraciones altas de sacaropina en la sangre sólo si el defecto afecta la actividad 2. Un defecto metabólico en la reacción 6 suscita una enfermedad metabólica hereditaria que muestra vínculo con degeneración del cuerpo estriado, y cortical, y que se caracteriza por cifras altas de glutarato y sus metabolitos, glutaconato y 3-hidroxiglutarato. El desafío en el manejo de estos defectos metabólicos es restringir la ingestión de L-lisina en la dieta sin producir desnutrición.

Triptófano

Se degrada hacia intermediarios anfibólicos mediante la vía de la quinurenina-antranilato (**figura 29-16**). La **triptófano dioxi-**

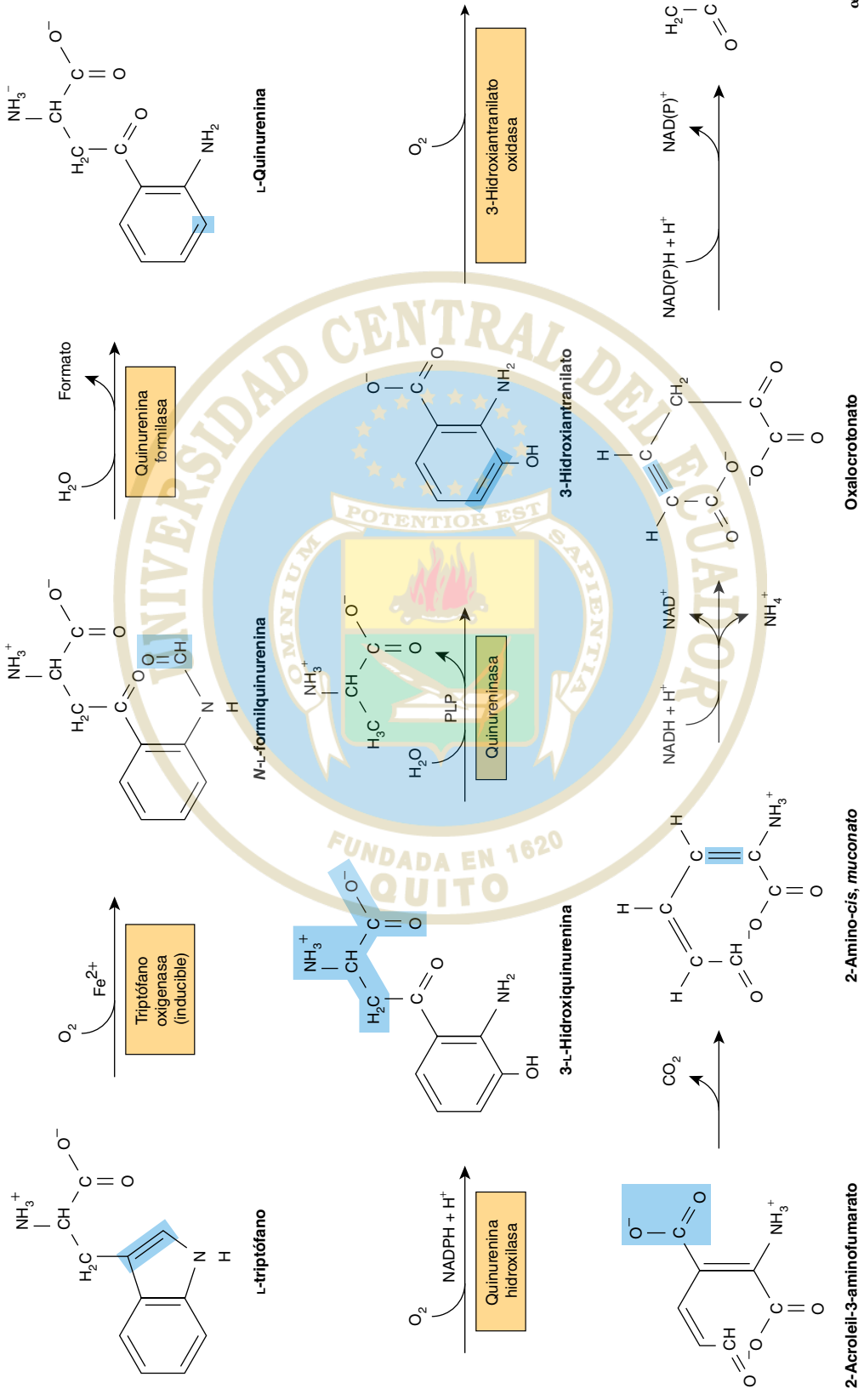


FIGURA 29-16 Reacciones en intermediarios y en el catabolismo del L-triptófano. (PLP, fosfato de piridoxal).

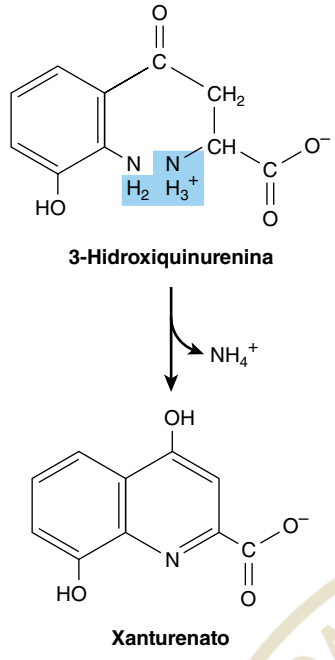


FIGURA 29-17 Formación de xanturenato en la deficiencia de vitamina B_6. La conversión del metabolito del triptófano 3-hidroxiquinurenina en 3-hidroxiantranilato está alterada (figura 29-16). En consecuencia, una porción grande se convierte en xanturenato.

genasa, EC 1.13.11.11 (**triptófano pirrolasa**) abre el anillo indol, incorpora oxígeno molecular, y forma *N*-formilquinurenina. La triptófano oxigenasa, una metaloproteína de porfirina de hierro que es inducible en el hígado por los corticosteroides suprarrenales y por el triptófano, es inhibida por retroacción por derivados del ácido nicotínico, incluso NADPH. La eliminación hidrolítica del grupo formilo de la *N*-formilquinurenina, catalizada por la **quinurenina formilasa** (EC 3.5.1.9), produce quinurenina. Dado que la **quinureninasa** (EC 3.7.13) requiere fosfato de piridoxal, la excreción de xanturenato (**figura 29-17**) en respuesta a una carga de triptófano es diagnóstica de deficiencia de vitamina B_6. La **enfermedad de Hartnup** refleja alteración del transporte intestinal y renal de triptófano y de otros aminoácidos neutros. Los derivados indol del triptófano no absorbido formados por las bacterias intestinales se excretan. El defecto limita la disponibilidad de triptófano para la biosíntesis de niacina, y explica los signos y síntomas parecidos a pelagra.

Metionina

La metionina reacciona con la *S*-adenosilmetionina formadora de ATP, la "metionina activa" (**figura 29-18**). Las reacciones subsiguientes forman propionil-CoA (**figura 29-19**), a la cual tres reacciones subsiguientes convierten en succinil-CoA (figura 20-2).

LAS REACCIONES INICIALES SON COMUNES A LOS TRES AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Las primeras tres reacciones del catabolismo de la isoleucina, leucina y valina (**figura 29-20**) son análogas a las reacciones del catabolismo de ácidos grasos (figura 22-3). Después de la transaminación (figura 29-20, reacción 1) los esqueletos de carbono de los alfa-cetoácidos resultantes pasan por descarboxilación oxidativa, y conversión en tioésteres de coenzima A. Este proceso de múltiples pasos es catalizado por el **complejo de α-cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada mitocondrial**, cuyos componentes son idénticos desde el punto de vista funcional a los del complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH) (figura 18-5). Al igual que la PDH, dicho complejo consta de cinco componentes:

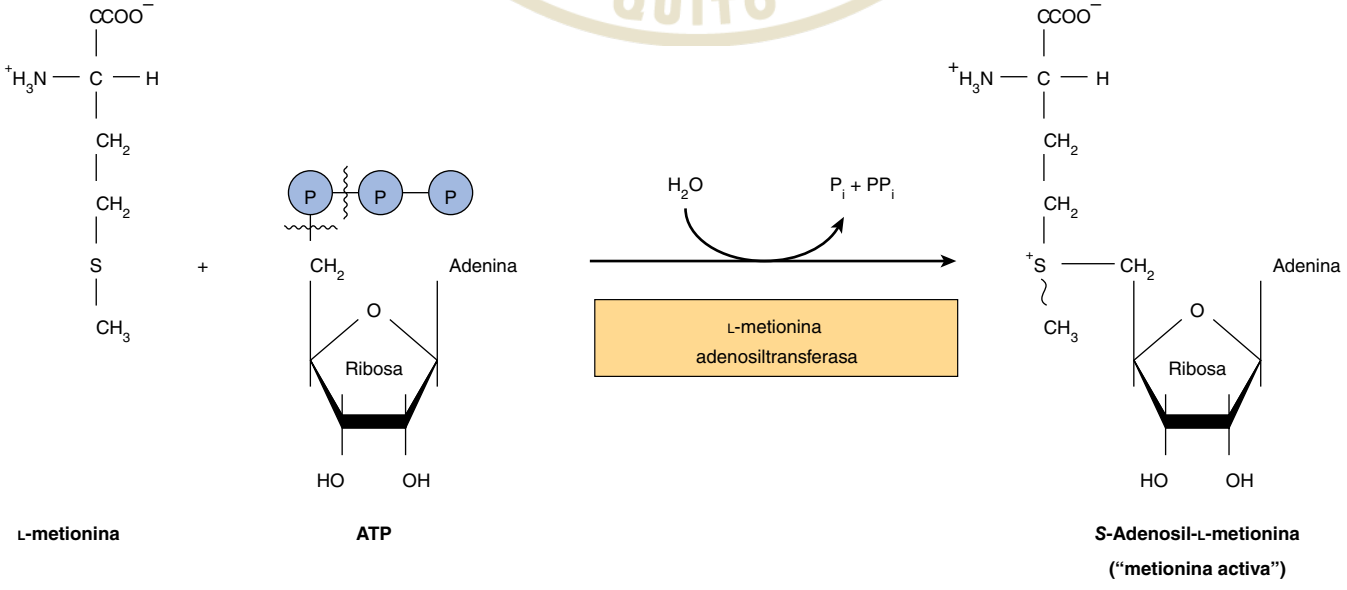


FIGURA 29-18 Formación de *S*-adenosilmetionina. ~CH3 representa el alto potencial de transferencia de grupo de la "metionina activa".

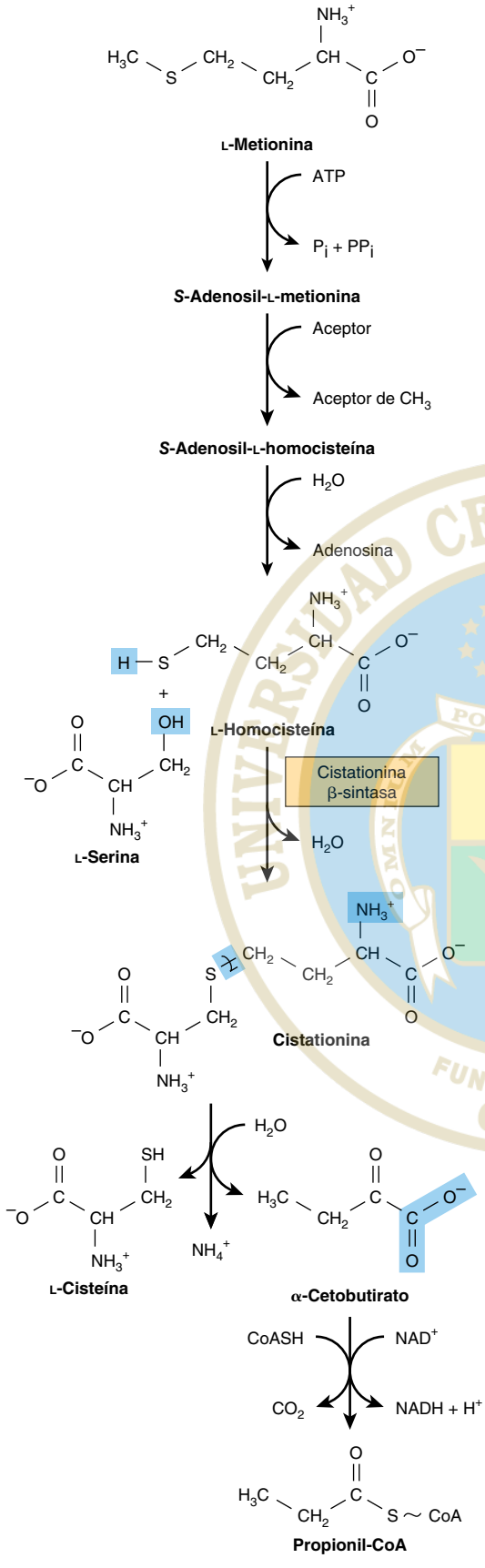


FIGURA 29-19 **Conversión de metionina en propionil-CoA.**

E1: α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada dependiente de pirofosfato de tiamina (TPP).

E2: dihidrolipoil transacilasa (contiene lipoamida).

E3: dihidrolipoamida deshidrogenasa (contiene FAD).

Proteína cinasa.

Proteína fosfatasa.

Al igual que para la piruvato deshidrogenasa, la proteína cinasa y la proteína fosfatasa regulan la actividad del complejo de α-cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada por medio de fosforilación (desactivación) y desfosforilación (activación).

La deshidrogenación de los tioésteres de coenzima A resultantes (reacción 3, figura 29-20) procede como la deshidrogenación de tioésteres de acil-CoA grasos derivados de lípido (capítulo 22). En las **figuras 29-21**, **29-22** y **29-23** se presentan reacciones subsiguientes que son singulares para cada esqueleto de aminoácido.

TRASTORNOS METABÓLICOS DEL CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Como su nombre lo indica, el olor de la orina en la **enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (cetonuria de cadena ramificada**, o **MSUD**) sugiere jarabe de arce, o azúcar quemada. El defecto bioquímico en la MSUD involucra el **complejo de la α-cetoácido descarboxilasa** (reacción 2, figura 29-20). Las concentraciones plasmática y urinaria de leucina, isoleucina, valina y sus α-cetoácidos y α-hidroxi ácidos (α-cetoácidos reducidos) están altas, pero los cetoácidos urinarios se derivan principalmente de la leucina. Los signos y síntomas de la MSUD son cetoacidosis a menudo mortal, alteraciones neurológicas, retraso mental y orina con olor a jarabe de arce. Se desconoce el mecanismo de toxicidad. El diagnóstico temprano mediante análisis enzimático es esencial para evitar daño cerebral y mortalidad temprana al reemplazar la proteína de la dieta por una mezcla de aminoácidos que carezca de leucina, isoleucina y valina.

Las características de genética molecular de la MSUD son heterogéneas. La MSUD puede producirse por mutaciones en los genes que codifican para E1α, E1β, E2 y E3. Con base en el *locus* afectado, se reconocen subtipos genéticos de MSUD. La MSUD tipo IA surge por mutaciones en el gen que codifica para E1α, la tipo IB en el gen E1β, la tipo II en el gen E2, y la tipo III en el gen E3 (**cuadro 29-3**). En la **cetonuria de cadena ramificada intermitente**, la α-cetoácido descarboxilasa retiene algo de actividad, y los síntomas aparecen en etapas más avanzadas de la vida. En la **acidemia isovalérica**, la ingestión de alimentos ricos en proteína aumenta el isovalerato, el producto de desacetilación de la isovaleril-CoA. La enzima alterada en la **acidemia isovalérica** es la **isovaleril-CoA deshidrogenasa** (reacción 3, figura 29-20). La ingestión de proteína excesiva va seguida por vómitos, acidosis y coma. La isovaleril-CoA acumulada es hidrolizada hacia isovalerato y excretada.

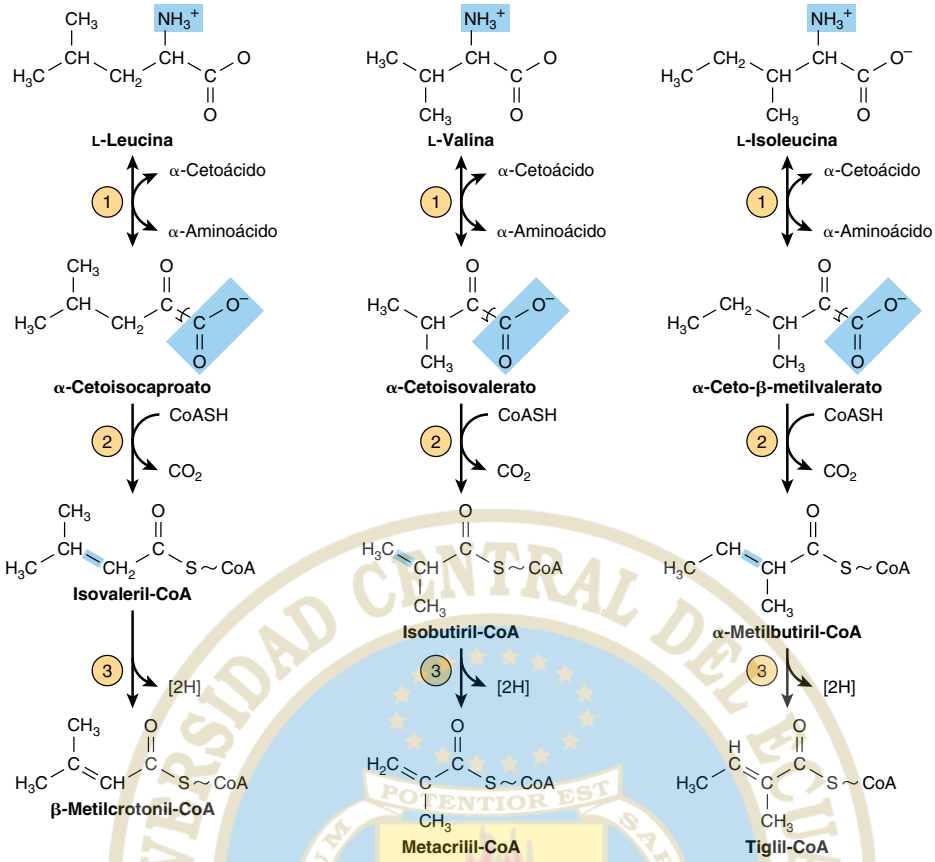


FIGURA 29-20 Las primeras tres reacciones en el catabolismo de la leucina, valina e isoleucina. Note también la analogía de las reacciones 2 y 3 con las reacciones del catabolismo de los ácidos grasos (figura 22-3). La analogía con el catabolismo de los ácidos grasos continúa, como se muestra en las figuras subsiguientes.

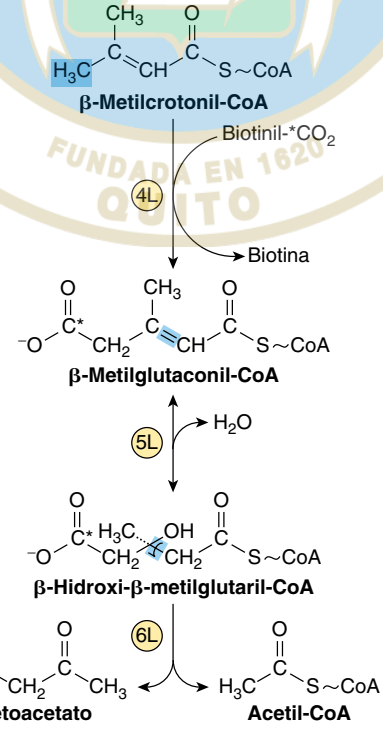


FIGURA 29-21 Catabolismo de la β-metilcrotonil-CoA formada a partir de la L-leucina. Los asteriscos indican átomos de carbono derivados del CO_2.

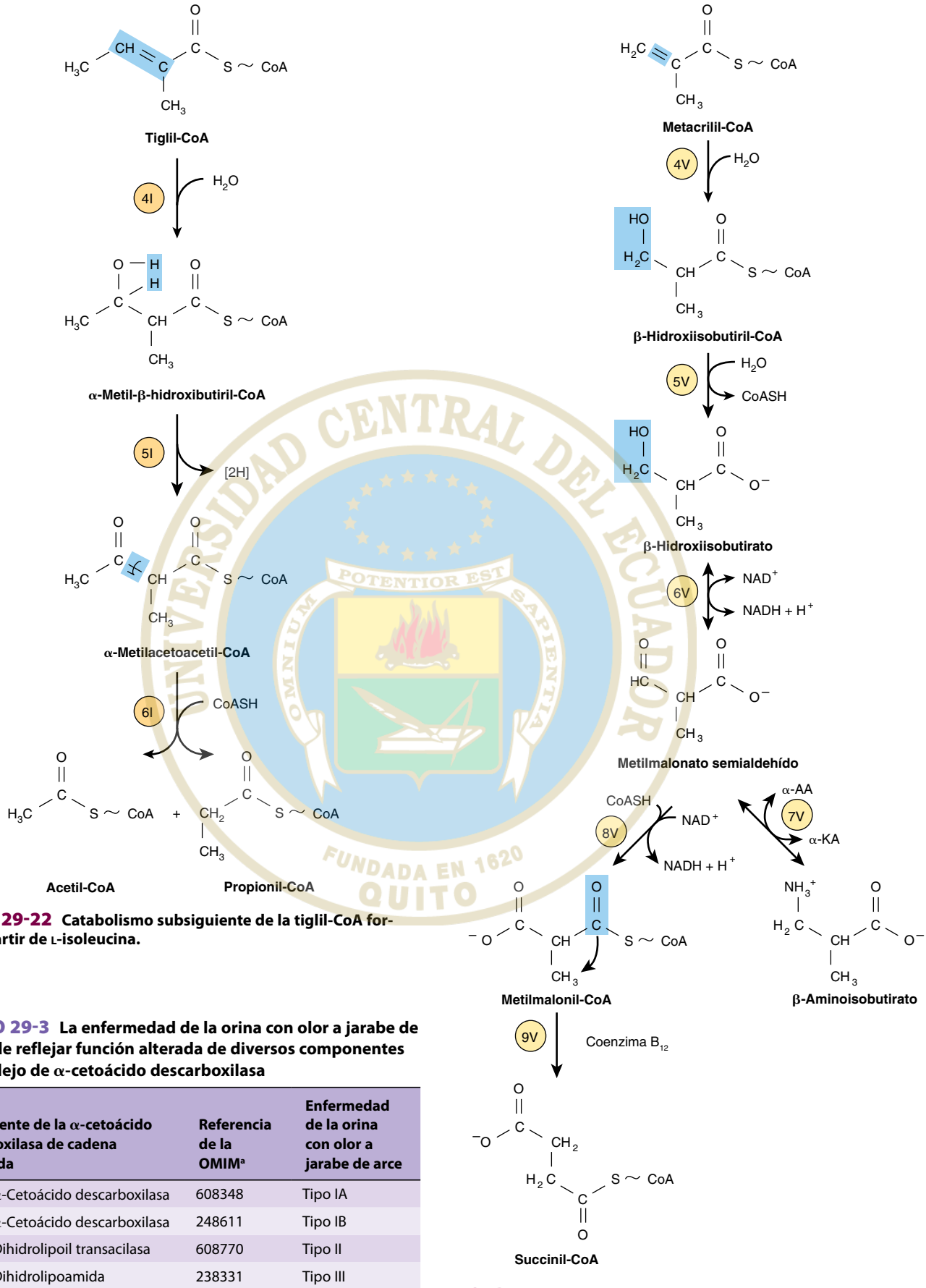


FIGURA 29-22 **Catabolismo subsiguiente de la tiglil-CoA formada a partir de L-isoleucina.**

CUADRO 29-3 **La enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce puede reflejar función alterada de diversos componentes del complejo de α-cetoácido descarboxilasa**

Componente de la α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada		Referencia de la OMIM[a]	Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce
Eiα	α-Cetoácido descarboxilasa	608348	Tipo IA
Eiβ	α-Cetoácido descarboxilasa	248611	Tipo IB
E2	Dihidrolipoil transacilasa	608770	Tipo II
E3	Dihidrolipoamida deshidrogenasa	238331	Tipo III

[a] Base de datos de Online Mendelian Inheritance in Man: ncbi.nlm.nih.gov/omim/

FIGURA 29-23 **Catabolismo subsiguiente de la metacrilil-CoA formada a partir de la L-valina (figura 29-20).** (α-AA, α-aminoácido; α-KA, α-cetoácido).

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POTENTIOR EST SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

RESUMEN

- Los aminoácidos excesivos se catabolizan hacia intermediarios anfibólicos que sirven como fuentes de energía y para la biosíntesis de carbohidratos y lípidos.
- La transaminación es la reacción inicial más frecuente del catabolismo de aminoácidos. Las reacciones subsiguientes eliminan cualquier nitrógeno adicional y reestructuran los esqueletos de hidrocarburo para la conversión hacia oxaloacetato, α-cetoglutarato, piruvato y acetil-CoA.
- Las enfermedades metabólicas relacionadas con el catabolismo de la glicina son la glicinuria y la hiperoxaluria primaria.
- Dos vías convierten la cistina en piruvato. Los trastornos metabólicos del catabolismo de la cisteína son la cistina-lisinuria, la enfermedad por depósito de cistina y las homocistinurias.
- El catabolismo de la treonina se fusiona con el de la glicina luego de que la treonina aldolasa divide la treonina hacia glicina y acetaldehído.
- Después de transaminación, el esqueleto de carbono de la tirosina es degradado hacia fumarato y acetoacetato. Las enfermedades metabólicas del catabolismo de la tirosina son la tirosinosis, el síndrome de Richner-Hanhart, la tirosinemia neonatal y la alcaptonuria.
- Los trastornos metabólicos del catabolismo de la fenilalanina son la PKU y varias hiperfenilalaninemias.
- Ningún nitrógeno de la lisina pasa por transaminación directa. Sin embargo, el mismo efecto se logra por medio de la formación intermedia de sacaropina. Las enfermedades metabólicas del catabolismo de la lisina son formas periódica y persistente de hiperlisinemia-amonemia.
- El catabolismo de la leucina, valina e isoleucina presenta muchas analogías con el catabolismo de ácidos grasos. Los trastornos metabólicos del catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada son la hipervalinemia, la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, la cetonuria de cadena ramificada intermitente, acidemia isovalérica, y aciduria metilmalónica.

REFERENCIAS

Bliksrud YT, Brodtkorb E, Andresen PA, *et al*: Tyrosinemia type I, de novo mutation in liver tissue suppressing an inborn splicing defect. J Mol Med 2005;83:406.

Dobrowolski, SF Pey AL, Koch R, *et al*: Biochemical characterization of mutant phenylalanine hydroxylase enzymes and correlation with clinical presentation in hyperphenylalaninaemic patients. J Inherit Metab Dis 2009;32:10.

Fagiuoli S, Daina E, D'Antiga L, *et al*: Monogenic diseases that can be cured by liver transplantation. J Hepatol 2013;59:595.

Garg U, Dasouki M: Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry. Clinical and laboratory aspects. Clin Biochem 2006;39:315.

Geng J, Liu A: Heme-dependent dioxygenases in tryptophan oxidation. Arch Biochem Biophys 2014;44:18.

Häussinger D, Schliess F: Glutamine metabolism and signaling in the liver. Front Biosci 2007;12:371.

Heldt K, Schwahn B, Marquardt I, *et al*: Diagnosis of maple syrup urine disease by newborn screening allows early intervention without extraneous detoxification. Mol Genet Metab 2005;84:313.

Houten SM, Te Brinke H, Denis S, *et al*: Genetic basis of hyperlysinemia. Orphanet J Rare Dis 2013;8:57.

Lamp J, Keyser B, Koeller DM, *et al*: Glutaric aciduria type 1 metabolites impair the succinate transport from astrocytic to neuronal cells. J Biol Chem 2011;286:17,777.

Mayr JA, Feichtinger RG, Tort F, *et al*: Lipoic acid biosynthesis defects. J Inherit Metab Dis 2014;37:553.

Mitsubuchi H, Nakamura K, Matsumoto S, *et al*: Inborn errors of proline metabolism. J Nutr 2008;138:2016S.

Moshal K, Camel CK, Kartha GK, *et al*: Cardiac dys-synchronization and arrhythmia in hyperhomocysteinemia. Curr Neurovasc Res 2007;4:289.

Muller E, Kolker S: Reduction of lysine intake while avoiding malnutrition: major goals and major problems in dietary treatment of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. J Inherit Metab Dis 2004;27:903.

Nagao M, Tanaka T, Furujo M: Spectrum of mutations associated with methionine adenosyltransferase I/III deficiency among individuals identified during newborn screening in Japan. Mol Genet Metab 2013;110:460.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Stenn FF, Milgram JW, Lee SL, *et al*: Biochemical identification of homogentisic acid pigment in an ochronotic Egyptian mummy. Science 1977;197:566.

Tondo M, Calpena E, Arriola G, *et al*: Clinical, biochemical, molecular and therapeutic aspects of 2 new cases of 2-aminoadipic semialdehyde synthase deficiency. Mol Genet Metab 2013;110:231.

Wilcken B, Wiley V: Newborn screening. Pathology 2008;40:104.

CAPÍTULO 30

Conversión de aminoácidos en productos especializados

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Citar ejemplos de cómo los aminoácidos participan en diversos procesos biosintéticos que no son la síntesis de proteína.
- Esbozar el modo en que la arginina participa en la biosíntesis de creatina, óxido nítrico (NO), putrescina, espermina y espermidina.
- Indicar la contribución de la cisteína y de la β-alanina a la estructura de la coenzima A.
- Comentar la función de la glicina en el catabolismo y excreción de fármacos.
- Documentar la función de la glicina en la biosíntesis de hem, purinas, creatina y sarcosina.
- Identificar la reacción que convierte un aminoácido en el neurotransmisor histamina.
- Documentar la función de la S-adenosilmetionina en el metabolismo.
- Reconocer los metabolitos del triptófano, serotonina, melatonina, triptófano e indol 3-acetato.
- Indicar la función de la tirosina en la formación de noradrenalina y adrenalina.
- Ilustrar las funciones clave de la peptidil serina, treonina y tirosina en la regulación metabólica de las vías de transducción de señal.
- Esbozar las implicaciones de la glicina, arginina y S-adenosilmetionina en la biosíntesis de la creatina.
- Describir la función del fosfato de creatina en la homeostasis de energía.
- Describir la formación del γ-aminobutirato (GABA) y los raros trastornos metabólicos asociados con defectos del catabolismo del GABA.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIA POTENTIOR EST SCIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Ciertas proteínas contienen aminoácidos que han pasado por modificación postraduccional con el fin de permitirles realizar funciones específicas. Los ejemplos son la carboxilación del glutamato para formar γ-carboxiglutamato, que funciona en la unión de Ca^{2+}, la hidroxilación de prolina para la incorporación hacia la triple hélice de colágeno, y la hidroxilación de lisina hacia 5-hidroxilisina, cuya modificación y entrecruzamiento subsiguientes estabilizan fibras de colágeno en maduración. Además de servir como los bloques de construcción para la síntesis de proteína, los aminoácidos sirven como precursores de materiales biológicos, como hem, purinas, pirimidinas, hormonas, neurotransmisores y péptidos que tienen actividad biológica. La histamina tiene una función fundamental en muchas reacciones alérgicas. Los neurotransmisores derivados de aminoácidos incluyen γ-aminobutirato, 5-hidroxitriptamina (serotonina), dopamina, norepinefrina y epinefrina. Muchos de los fármacos que se usan para tratar enfermedades neurológicas y psiquiátricas actúan al alterar el metabolismo de estos neurotransmisores. A continuación se comentan en el metabolismo y las funciones metabólicas de α-aminoácidos y no α-aminoácidos.

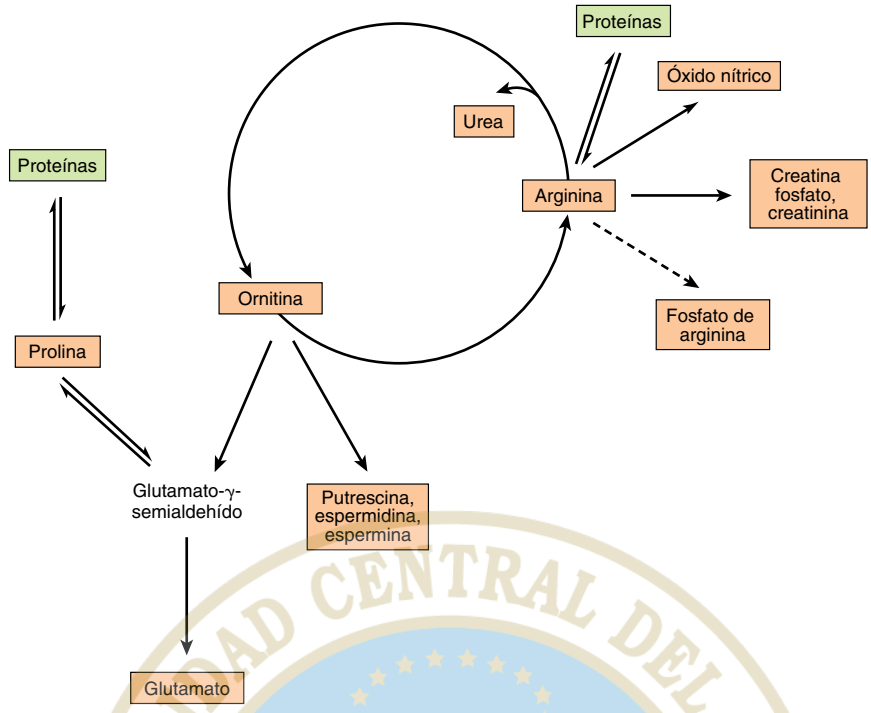


FIGURA 30-1 Metabolismo de la arginina, ornitina y prolina. Todas las reacciones con flechas continuas suceden en tejidos de mamífero. La putrescina y espermina se sintetizan tanto en mamíferos como en bacterias. El fosfato de arginina del músculo de invertebrados funciona como un fosfágeno análogo a la creatina fosfato del músculo de mamíferos.

L-α-AMINOÁCIDOS

Alanina

Sirve como un acarreador de amoníaco y de los carbonos del piruvato desde el músculo estriado hacia el hígado por medio del ciclo de Cori (capítulo 19), y junto con la glicina constituye una fracción importante de los aminoácidos libres en el plasma.

Arginina

En la **figura 30-1** se resumen los destinos metabólicos de la arginina. Además de servir como un transportador de átomos de nitrógeno en la biosíntesis de la urea (figura 28-16), el grupo guanidino de la arginina es incorporado hacia creatina, y después de conversión en ornitina, su esqueleto de carbono se convierte en el de las poliaminas putrescina y espermina (véase más adelante).

La reacción catalizada por la NO sintasa, EC 1.14.13.39 (**figura 30-2**), una oxidorreductasa de cinco electrones con múltiples cofactores, convierte un nitrógeno del grupo guanidina de la arginina en L-ornitina y NO, una molécula emisora de señales intracelulares que sirve como un neurotransmisor, relajante del músculo liso y vasodilatador (capítulo 51).

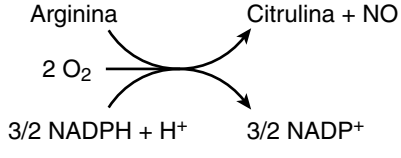


FIGURA 30-2 La reacción catalizada por la óxido nítrico sintasa.

Cisteína

Participa en la biosíntesis de la coenzima A (capítulo 44) al reaccionar con pantotenato para formar 4-fosfopantotenoil-cisteína (**figura 30-3**). Tres reacciones catalizadas por enzima convierten la cisteína en taurina, que puede desplazar la porción coenzima A de la colil-CoA para formar el ácido biliar ácido taurocólico (capítulo 26). La conversión de cisteína en taurina se inicia por su oxidación de sulfinoalanina (cisteína sulfinato), catalizada por la enzima

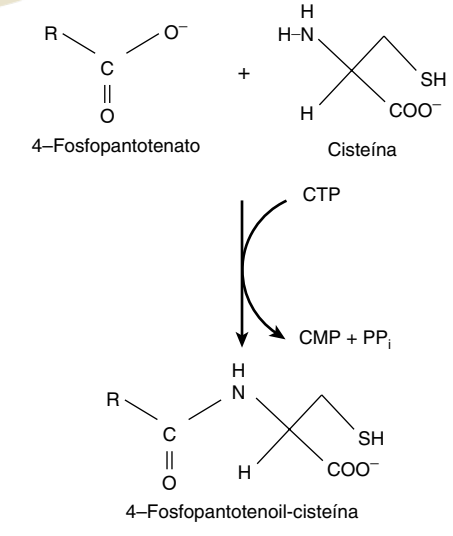


FIGURA 30-3 La reacción catalizada por la fosfopantotenato cisteína ligasa (EC 6.3.2.5).

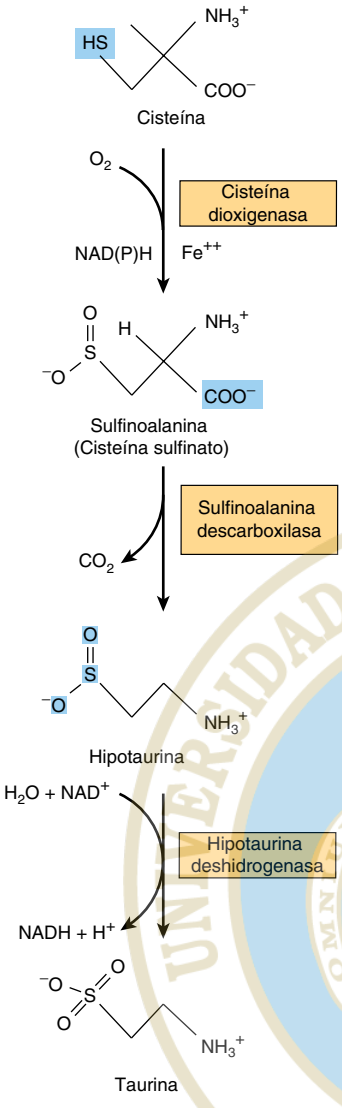


FIGURA 30-4 Conversión de cisteína en taurina. Las reacciones son catalizadas por la cisteína dioxigenasa, la cisteína sulfinato descarboxilasa y la hipotaurina descarboxilasa, respectivamente.

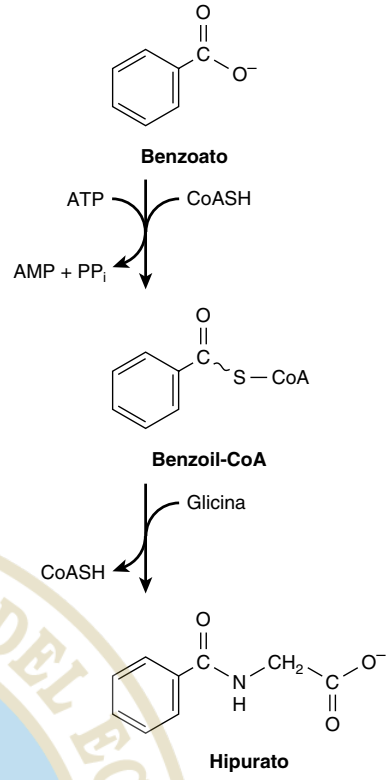


FIGURA 30-5 Biosíntesis del hipurato. Ocurren reacciones análogas con muchos medicamentos y catabolitos acídicos.

Fe^{2+} no hem cisteína dioxigenasa, EC 1.13.11.20. La descarboxilación de cisteína sulfinato por la sulfinoalanina descarboxilasa, EC 4.1.129 forma hipotaurina, cuya oxidación por la hipotaurina deshidrogenasa (EC 1.8.1.3) forma taurina (**figura 30-4**).

Glicina

Muchos metabolitos y fármacos son excretados como conjugados de glicina hidrosolubles. Los ejemplos son el ácido glicocólico (capítulo 26), y el ácido hipúrico formado a partir del aditivo de alimentos benzoato (**figura 30-5**). Muchos fármacos, metabolitos de fármacos, y otros compuestos con grupos carboxilo son conjugados con glicina, lo cual los hace más hidrosolubles y, así, facilita su excreción en la orina. Esta última se incorpora en la creatina, y el nitrógeno y el carbono α de la glicina se incorporan en los anillos pirrol y los carbonos de puente de metileno del hem (capítulo 31), y toda la molécula de glicina se convierte en los átomos 4, 5 y 7 de purinas (figura 33-1).

Histidina

La descarboxilación de la histidina a histamina es catalizada por la enzima histidina descarboxilasa, dependiente de piridoxal 5′-fosfato, forma histamina, EC 4.1.1.22 (**figura 30-6**). La histamina, una amina biogénica que funciona en las reacciones alérgicas y la secreción gástrica, está presente en todos los tejidos. Su concentración en el hipotálamo varía de acuerdo con un ritmo circadiano. Los compuestos histidina presentes en el organismo humano son ergotioneína, carnosina y la anserina de la dieta (**figura 30-7**). Aun cuando se desconocen sus funciones fisiológicas, la carnosina (β-alanil-histidina) y la homocarnosina (γ-aminobutiril-histidina) son constituyentes importantes de tejidos excitables, el cerebro y el músculo estriado. Las cifras urinarias de 3-metilhistidina son extraordinariamente bajas en pacientes con **enfermedad de Wilson**.

Metionina

El principal destino no proteínico de la metionina es la conversión en *S*-adenosilmetionina, la fuente primordial de grupos metilo en

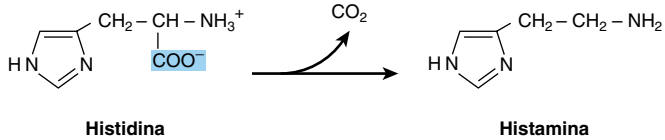
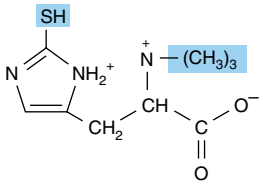
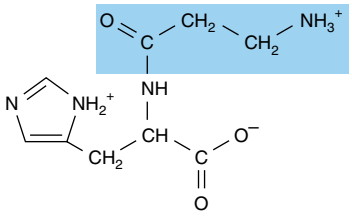


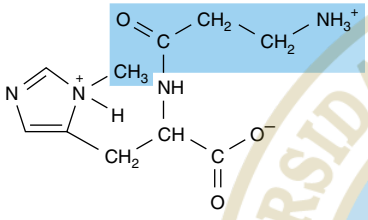
FIGURA 30-6 La reacción catalizada por la histidina descarboxilasa.



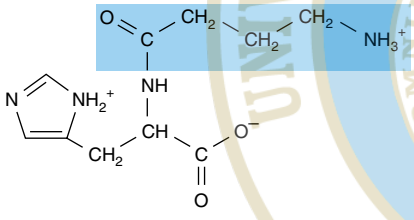
Ergotioneína



Carnosina

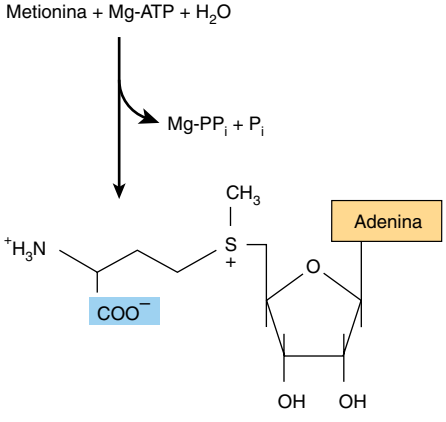


Anserina



Homocarnosina

FIGURA 30-7 Derivados de la histidina. Los recuadros en color rodean a los componentes no derivados de la histidina. El grupo SH de la ergotioneína se deriva de la cisteína.



***S*-Adenosilmetionina**

FIGURA 30-8 Biosíntesis de la S-adenosilmetionina, catalizada por la metionina adenosiltransferasa.

el cuerpo. La biosíntesis de *S*-adenosilmetionina a partir de metionina y ATP, es catalizada por la metionina adenosiltransferasa, EC 2.5.1.6 (MAT) (**figura 30-8**). Los tejidos humanos contienen tres isozimas de MAT: MAT-1 y MAT-3 del hígado y MAT-2 de tejidos no hepáticos. Aun cuando la **hipermetioninemia** puede producirse por una disminución grave de la actividad de la MAT-1 y MAT-3 hepáticas, si hay actividad residual de MAT-1º MAT-3, y la actividad de la MAT-2 es normal, una concentración hística alta de metionina asegurará síntesis de cantidades adecuadas de *S*-adenosilmetionina.

Luego de descarboxilación de *S*-adenosilmetionina por la metionina descarboxilasa (EC 4.1.1.57), tres carbonos y el grupo α-amino de la metionina contribuyen a la biosíntesis de las poliaminas espermina y espermidina (**figura 30-9**). Estas poliaminas funcionan en la proliferación y el crecimiento celulares, son factores de crecimiento para células de mamífero en cultivo, y estabilizan células intactas, organelos subcelulares y membranas. Las dosis farmacológicas de poliaminas originan hipotermia e hipotensión. Dado que portan múltiples cargas positivas, las poliaminas se asocian fácilmente con el DNA y RNA. En la figura 30-9 se resume la biosíntesis de poliaminas a partir de metionina y ornitina, y en la **figura 30-10**, el catabolismo de las poliaminas.

Serina

La serina participa en la biosíntesis de la esfingosina (capítulo 24), y de purinas y pirimidinas, donde proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas y el grupo metilo de la timina (capítulo 33). Los defectos genéticos de la cistationina β-sintasa, EC 6.3.2.3.

$$\text{Serina} + \text{homocisteína} \rightarrow \text{cistationina} + H_2O$$

Una proteína hem que cataliza la condensación de serina con homocisteína piroxidal 5′ dependiente de fosfato para formar cistationina, lo que resulta en **homocistonuria**.

Triptófano

Después de la hidroxilación del triptófano hacia 5-hidroxitriptófano por la tirosina hidroxilasa hepática (EC 1.14.16.4), la descarboxilación subsiguiente forma serotonina (5-hidroxitriptamina), un potente vasoconstrictor y estimulador de la contracción del músculo liso. El catabolismo de la serotonina inicia por la desaminación oxidativa hacia 5-hidroxiindol-3-acetato, reacción catalizada por la monoaminooxidasa, EC1.4.3.4 (**figura 30-11**). La estimulación psíquica que se observa tras la administración de iproniazida se produce por su capacidad para prolongar la acción de la serotonina al inhibir a la MAO. En el carcinoide (argentafinoma), las células tumorales producen cantidades excesivas de serotonina. Los metabolitos urinarios de esta última en sujetos con carcinoide incluyen *N*-acetilserotonina glucurónido y el conjugado glicina del 5-hidroxiindolacetato. La serotonina y la 5-metoxitriptamina se metabolizan hacia los ácidos correspondientes por medio de la MAO. La *N*-acetilación de la serotonina, seguida por su *O*-metilación en el cuerpo pineal, forma melatonina. La melatonina circulante es captada por todos los tejidos, incluso el cerebro, pero se metaboliza con rapidez por medio de hidroxilación seguida por conjugación con sulfato o con ácido glucurónico. Los tejidos renal y hepático, así como las bacterias fecales, convierten el

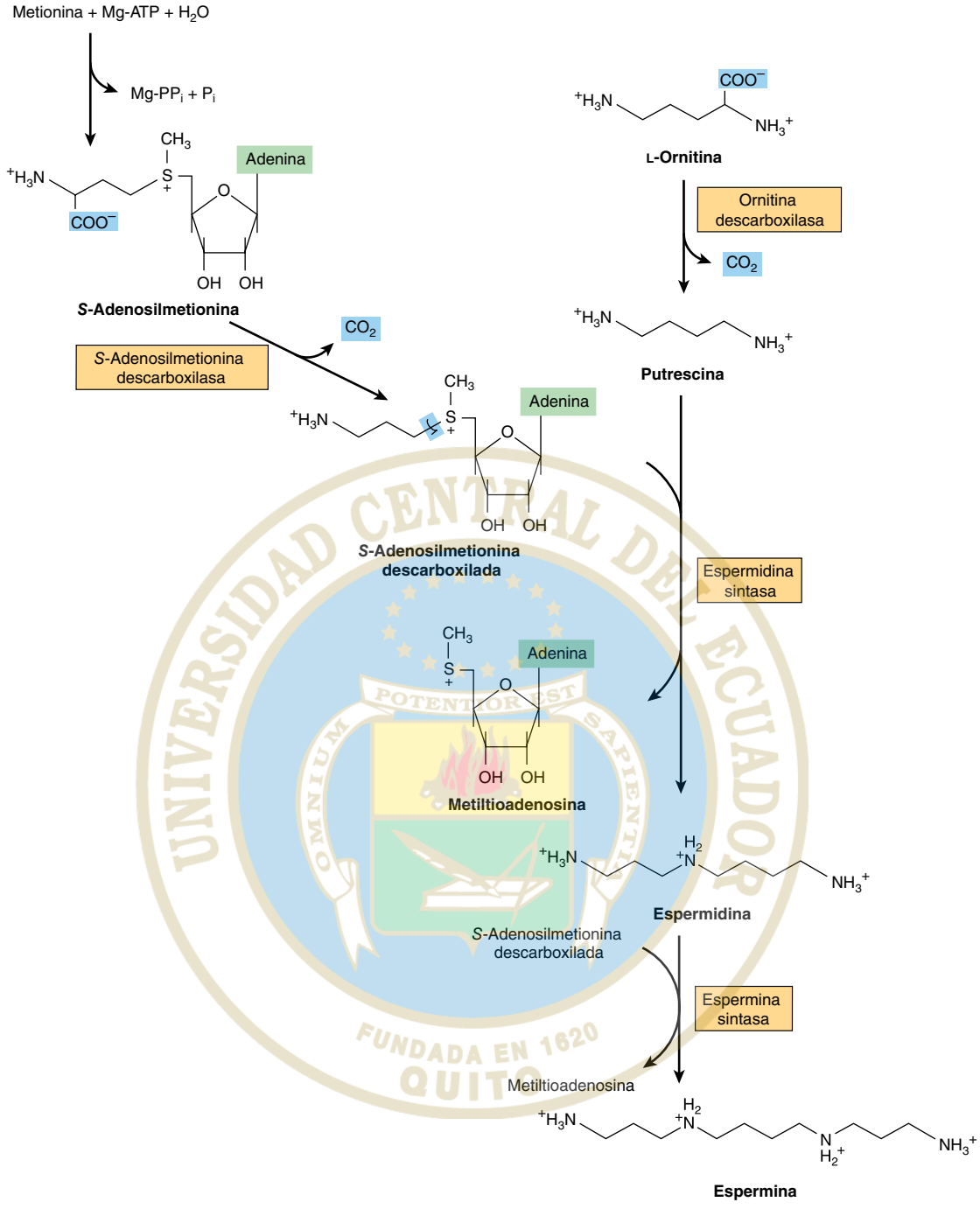


FIGURA 30-9 **Intermediarios y enzimas que participan en la biosíntesis de la espermidina y la espermina.**

triptófano en triptamina y luego en indol 3-acetato. Los principales catabolitos urinarios normales del triptófano son el 5-hidroxiindolacetato y el indol 3-acetato.

Tirosina

Las células neurales convierten la tirosina en epinefrina y norepinefrina (**figura 30-12**). Aunque la dopa también es un intermediario en la formación de melanina, diferentes enzimas hidroxilan a la tirosina en melanocitos. La dopa descarboxilasa EC 4.1.1.28, una enzima dependiente de fosfato de piridoxal, forma dopamina. La hidroxilación subsiguiente por la dopamina β-oxidasa (EC 1.14.17.1) a continuación forma norepinefrina. En la médula suprarrenal, la feniletanolamina-*N*-metiltransferasa (EC 2.1.1.28) utiliza *S*-adenosilmetionina para metilar la amina primaria de la norepinefrina, lo que forma epinefrina (figura 30-12). La tirosina también es un precursor de la triyodotironina y la tiroxina (capítulo 41).

Fosfoserina, fosfotreonina y fosfotirosina

La fosforilación y desfosforilación de residuos serilo, treonilo o tirosilo específicos de proteínas regulan la actividad de ciertas enzimas del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos

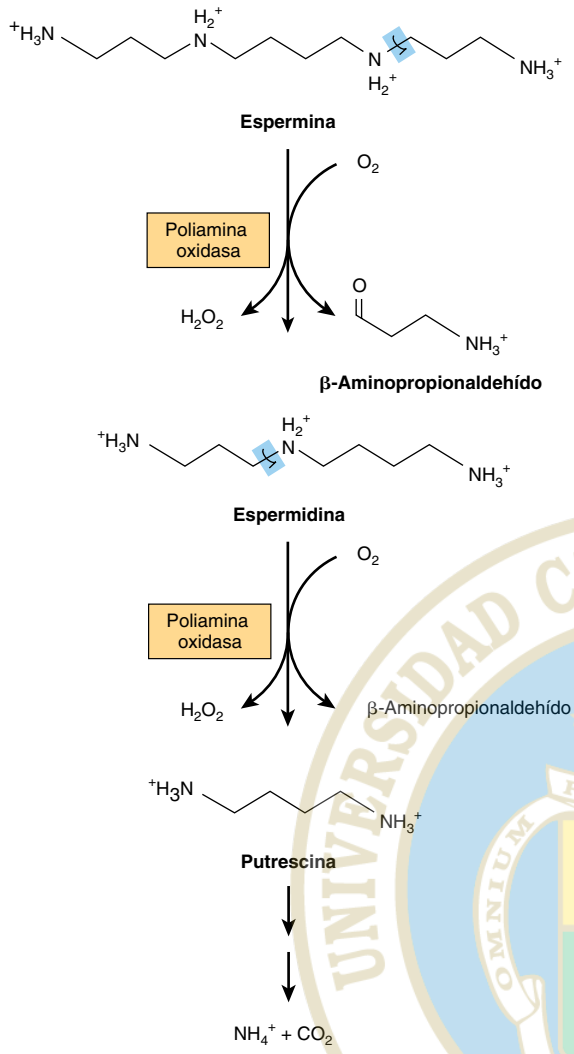


FIGURA 30-10 **Catabolismo de poliaminas.**

(capítulo 9, figuras 18-20 y 22-26) y de proteínas que participan en cascadas de transducción de señal (capítulo 42).

Sarcosina (*N*-metilglicina)

La biosíntesis y el catabolismo de la sarcosina (*N*-metilglicina) ocurren en las mitocondrias. La formación de sarcosina a partir de dimetilglicina es catalizada por la flavoproteína dimetilglicina deshidrogenasa EC 1.5.99.2, que requiere pteroilpentaglutamato (TPG) reducido.

$$\text{Dimetilglicina} + \text{FADH}_2 + \text{H}_4\text{TPG} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{sarcosina} + \textit{N}\text{-formil-TPG}$$

Cantidades traza de sarcosina también pueden surgir por metilación de glicina, una reacción catalizada por la glicina *N*-metiltransferasa, EC 2.1.1.20.

$$\text{Glicina} + \textit{S}\text{-adenosilmetionina} \rightarrow \text{sarcosina} + \textit{S}\text{-adenosilhomocisteína}$$

El catabolismo de la sarcosina hacia glicina, catalizado por la flavoproteína sarcosina deshidrogenasa EC 1.5.99.1, también necesita TPG reducido:

$$\text{Sarcosina} + \text{FAD} + \text{H}_4\text{TPG} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glicina} + \text{FADH}_2 + \textit{N}\text{-formil-TPG}$$

Las reacciones de desmetilación que forman y degradan sarcosina representan importantes fuentes de unidades de un carbono. El $FADH_2$ se reoxida mediante la cadena de transporte de electrones (capítulo 13).

Creatina y creatinina

La creatinina se forma en el músculo a partir del fosfato de creatina por medio de deshidratación no enzimática irreversible, y pérdida de fosfato (**figura 30-13**); puesto que la excreción de creatinina en orina de 24 horas es proporcional a la masa muscular, proporciona una medida de si se ha reunido un espécimen completo de orina de 24 horas. La glicina, arginina y metionina participan en la biosíntesis de creatina. La síntesis de creatina se completa mediante metilación del guanidoacetato por la *S*-adenosilmetionina (figura 30-13).

AMINOÁCIDOS NO α

Los que están presentes en los tejidos en una forma libre son β-alanina, β-aminoisobutirato y γ-aminobutirato (GABA). La β-alanina también está presente en forma combinada en la coenzima A y en los β-alanil dipéptidos carnosina, anserina y homocarnosina (véase más adelante).

β-alanina y β-aminoisobutirato

La β-alanina y β-aminoisobutirato se forman durante el catabolismo de las pirimidinas uracilo y timidina, respectivamente (figura 33-9). Asimismo, la hidrólisis de β-alanil dipéptidos por la enzima carnosinasa produce cantidades traza de β-alanina, EC 3.4.13.20. El β-aminoisobutirato también surge por transaminación de metilmalonato semialdehído, un catabolito de la L-valina (figura 29-23).

La reacción inicial del catabolismo de la β-alanina es la transaminación hacia malonato semialdehído. La transferencia subsiguiente de coenzima A desde la succinil-CoA forma malonil-CoA semialdehído, que después se oxida hacia malonil-CoA y se descarboxila hacia el intermediario anfibólico acetil-CoA. Reacciones análogas caracterizan el catabolismo del β-aminoisobutirato. La transaminación forma metilmalonato semialdehído, que es convertido en el intermediario anfibólico succinil-CoA por las reacciones 8V y 9V de la figura 29-23. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas de la vía catabólica de pirimidina; entre ellos destacan los trastornos que se producen por una deficiencia total o parcial de dihidropirimidina deshidrogenasa (capítulo 33).

β-alanil dipéptidos

Los β-alanil dipéptidos carnosina y anserina (N-metilcarnosina) (figura 30-7) activan a la miosina ATPasa (EC 3.6.4.1), producen quelación del cobre y aumentan la captación de este último. El β-alanil-imidazol amortigua el pH de músculo estriado que se está contrayendo, de modo anaeróbico. La biosíntesis de carnosina es catalizada por la carnosina sintetasa (EC 6.3.2.11) en una

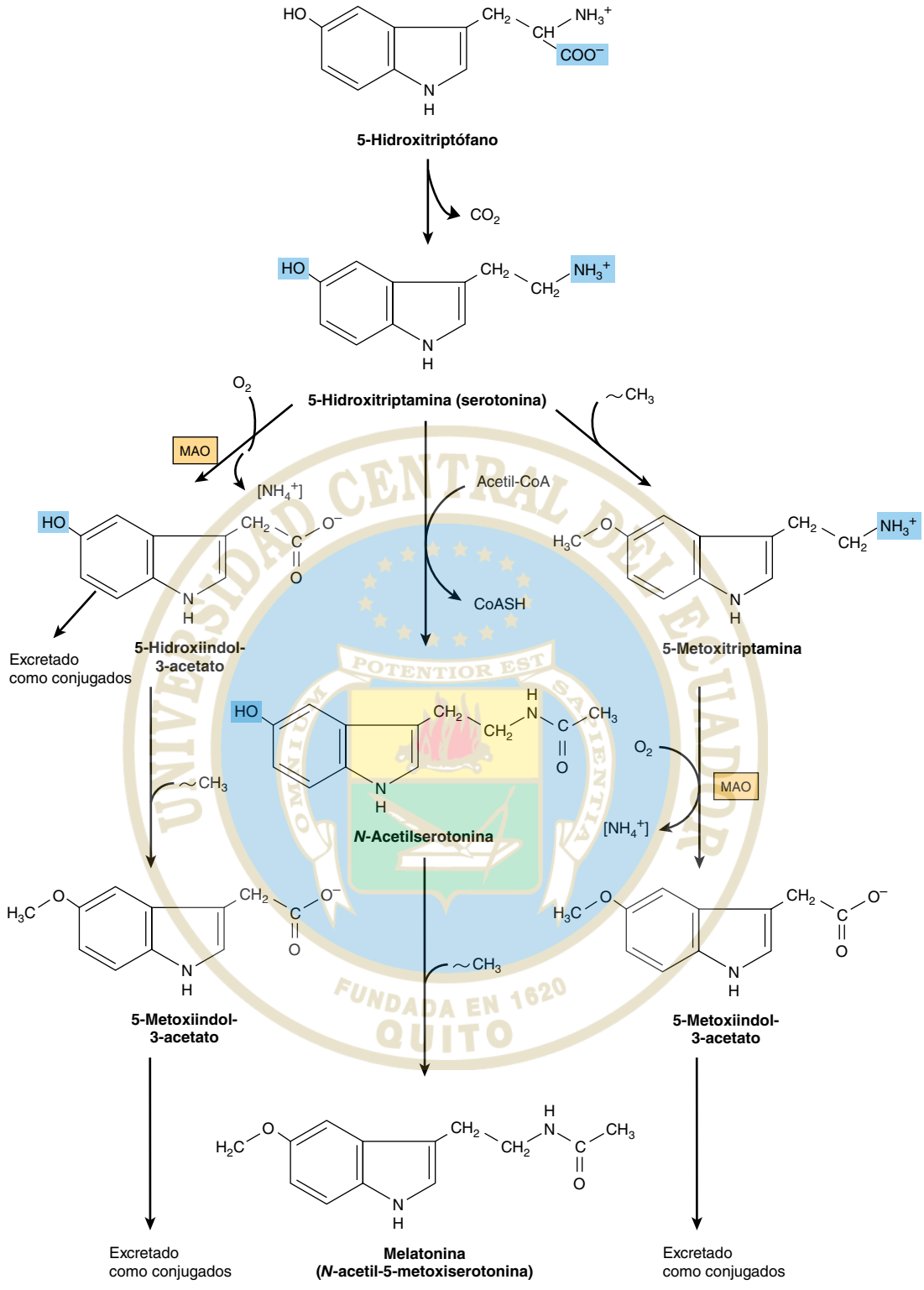


FIGURA 30-11 **Biosíntesis y metabolismo de la serotonina y la melatonina**. ([NH_4^+], mediante transaminación; MAO, monoaminooxidasa; ~CH_3, proveniente de S-adenosilmetionina).

reacción de dos etapas que comprende la formación inicial de un acil-adenilato de β-alanina unido a enzima, y la transferencia subsiguiente de la porción β-alanilo hacia L-histidina.

$$\text{p. 319ATP} + \beta\text{-alanina} \rightarrow \beta\text{-alanil-AMP} + PP_i$$

$$\beta\text{-Alanil-AMP} + \text{L-histidina} \rightarrow \text{carnosina} + \text{AMP}$$

La carnosinasa cataliza la hidrólisis de la carnosina hacia β-alanina y L-histidina, EC 3.4.13.20. El trastorno hereditario deficiencia de carnosinasa se caracteriza por **carnosinuria**.

La carnosina sintetasa sintetiza en el tejido cerebral la homocarnosina (figura 30-7), presente en el cerebro de humanos a cifras más altas que la carnosina. La carnosinasa sérica no

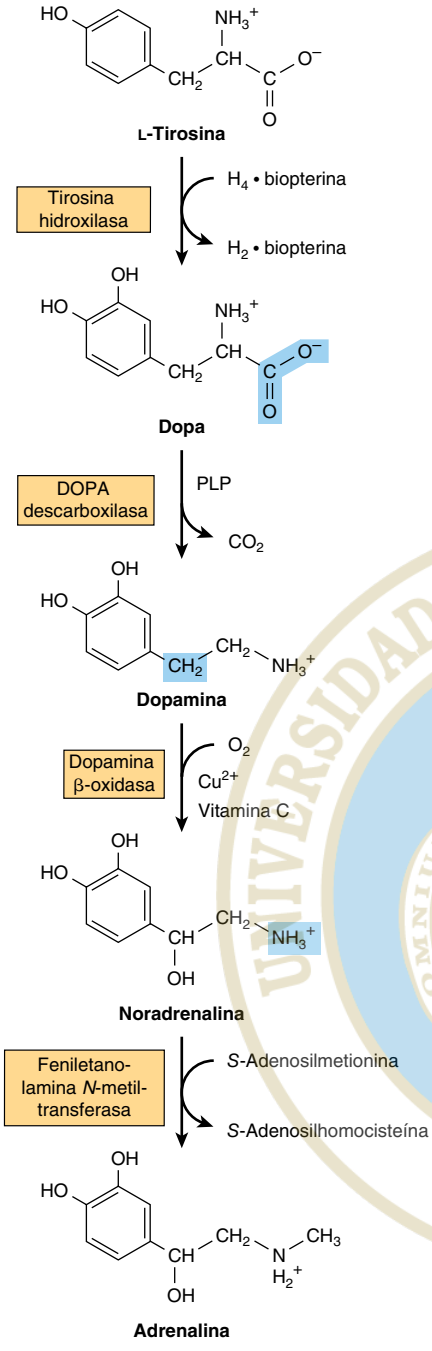


FIGURA 30-12 Conversión de tirosina en adrenalina y noradrenalina en células neuronales y suprarrenales. (PLP, fosfato de piridoxal).

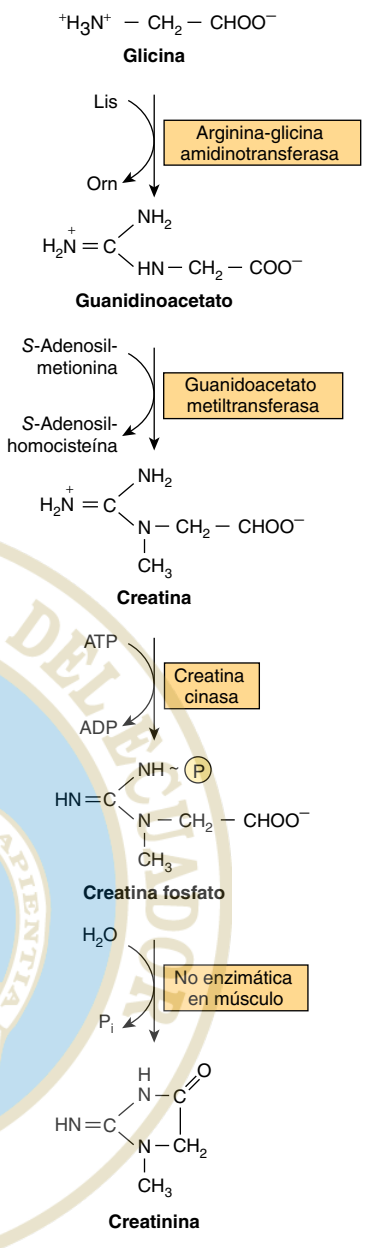


FIGURA 30-13 Biosíntesis de la creatina y creatinina. La conversión de glicina y el grupo guanidina de la arginina en creatina y creatina fosfato. También se muestra la hidrólisis no enzimática de creatina fosfato hacia creatinina.

hidroliza a la homocarnosina. La **homocarnosinosis**, un raro trastorno genético, se relaciona con paraplejía espástica y retraso mental progresivos.

γ-Aminobutirato (GABA)

Funciona en el tejido cerebral como un neurotransmisor inhibidor al alterar diferencias de potencial transmembrana. El GABA se forma por descarboxilación de glutamato por la L-glutamato descarboxilasa, EC 4.1.1.15 (**figura 30-14**). La transaminación del γ-aminobutirato forma succinato semialdehído, que se puede reducir hacia γ-hidroxibutirato por medio de la L-lactato deshidrogenasa, u oxidar hacia succinato y desde allí, mediante el ciclo del ácido cítrico, hacia CO_2 y H_2O (figura 30-14). Un raro trastorno genético del metabolismo del GABA incluye una GABA aminotransferasa defectuosa, una enzima que participa en el catabolismo del GABA luego de su liberación postsináptica en el tejido cerebral. Los defectos de la succínico semialdehído deshidrogenasa, EC 1.2.1.24 (figura 30-14) son la causa de la **aciduria 4-hidroxibutírica**, un raro trastorno metabólico del catabolismo del γ-aminobutirato, que se caracteriza por la presencia de 4-hidroxibutirato en la orina, el plasma y el líquido cefalorraquídeo. En la actualidad no se dispone de un tratamiento para los síntomas neurológicos leves a graves acompañantes.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
OMNIUM POTENTIOR EST SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

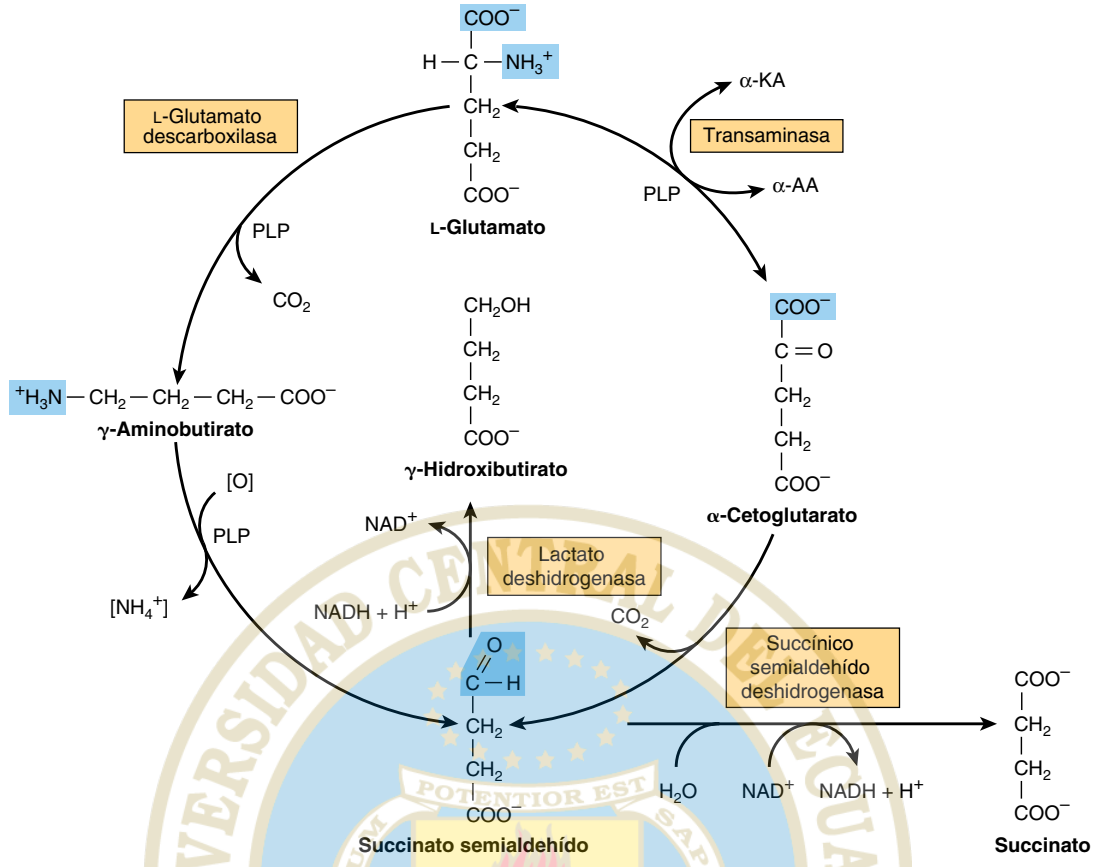


FIGURA 30-14 **Metabolismo del γ-aminobutirato.** (α-AA, α-aminoácidos; α-KA, α-cetoácidos; PLP, fosfato de piridoxal).

RESUMEN

- Además de desempeñar funciones estructurales y funcionales en las proteínas, los α-aminoácidos participan en una amplia variedad de otros procesos biosintéticos.
- La arginina proporciona el grupo formamidina de la creatina y el nitrógeno del NO. Por medio de la ornitina, la arginina proporciona el esqueleto de las poliaminas putrescina, espermina y espermidina.
- La cisteína proporciona la porción tioetanolamina de la coenzima A, y después de su conversión en taurina, parte del ácido biliar ácido taurocólico.
- La glicina participa en la biosíntesis de hem, purinas, creatina y *N*-metilglicina (sarcosina). Muchos medicamentos y metabolitos de fármacos se excretan como conjugados de glicina, lo que incrementa la hidrosolubilidad para excreción urinaria.
- La descarboxilación de la histidina forma el neurotransmisor histamina. Los compuestos histidina presentes en el organismo humano comprenden ergotioneína, carnosina y anserina de la dieta.
- La *S*-adenosilmetionina, la principal fuente de grupos metilo en el metabolismo, contribuye con su esqueleto de carbono a la biosíntesis de las poliaminas espermina y espermidina.
- Además de sus funciones en la biosíntesis de fosfolípido y esfingosina, la serina proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas, y el grupo metilo de la timina.
- Los metabolitos clave del triptófano incluyen serotonina y melatonina. Los tejidos renal y hepático, y las bacterias fecales, convierten el triptófano en triptamina y, de allí, en indol 3-acetato. Los principales catabolitos del triptófano en la orina son el indol 3-acetato y el 5-hidroxiindolacetato.
- La tirosina forma norepinefrina y epinefrina, y luego de yodación las hormonas tiroideas triyodotironina y tiroxina.
- La interconversión catalizada por enzima, de las formas fosfo y desfosfo de serina, treonina y tirosina unidas a péptido desempeña funciones clave en la regulación metabólica, incluso transducción de señal.
- La glicina, arginina y *S*-adenosilmetionina participan en la biosíntesis de creatina, que como fosfato de creatina sirve como una importante reserva de energía en los tejidos muscular y cerebral. La excreción en la orina de su catabolito creatina es proporcional a la masa muscular.
- La β-alanina y el β-aminoisobutirato están presentes en los tejidos como aminoácidos libres. La β-alanina también se encuentra en forma unida en la coenzima A, carnosina, anserina y homocarnosina. El catabolismo de β-alanina comprende conversión por pasos en acetil-CoA. Reacciones análogas catabolizan el β-aminoisobutirato hacia succinil-CoA. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas del catabolismo de pirimidina.
- La descarboxilación de glutamato forma el neurotransmisor inhibidor GABA; dos raros trastornos metabólicos muestran vínculo con defectos del catabolismo del GABA.

REFERENCIAS

Allen GF, Land JM, Heales SJ: A new perspective on the treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. Mol Genet Metab 2009;97:6.

Blaesi EJ, Fox BG, Brunold TC: Spectroscopic and computational investigation of iron(III) cysteine dioxygenase: implications for the nature of the putative superoxo-Fe(III) intermediate. Biochemistry 2014;53:5759.

Conti M, Beavo J: Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: essential components in cyclic nucleotide signaling. Annu Rev Biochem 2007;76:481.

Karagiannidis I, Dehning S, Sandor P, *et al*: Support of the histaminergic hypothesis in Tourette syndrome: association of the histamine decarboxylase gene in a large sample of families. J Med Genet 2013;50:760.

Komori H, Nitta Y, Ueno H, *et al*: Structural study reveals that Ser-354 determines substrate specificity on human histidine decarboxylase. J Biol Chem 2012;287:291.

Manegold C, Hoffmann GF, Degen I, *et al*: Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: clinical features, drug therapy and followup. J Inherit Metab Dis 2009;32:371.

Moinard C, Cynober L, de Bandt JP: Polyamines: metabolism and implications in human diseases. Clin Nutr 2005;24:184.

Montioli R, Dindo M, Giorgetti A, *et al*: A comprehensive picture of the mutations associated with aromatic amino acid decarboxylase deficiency: from molecular mechanisms to therapy implications. Hum Mol Genet 2014;23:5429.

Pearl PL, Gibson KM, Cortez MA, *et al*: Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: lessons from mice and men. J Inherit Metab Dis 2009;32:343.

Pearl PL, Taylor JL, Trzcinski S, *et al*: The pediatric neurotransmitter disorders. J Child Neurol 2007;22:606.

Pegg AE: The function of spermine. IUBMB Life 2014;66:8.

Schippers KJ, Nichols, SA: Deep, dark secrets of melatonin in animal evolution. Cell 2014;159:9.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Wu F, Yu J, Gehring H: Inhibitory and structural studies of novel coenzyme-substrate analogs of human histidine decarboxylase. FASEB J 2008;3:890.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO

31

Porfirinas y pigmentos biliares

Victor W. Rodwell, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Identificar los dos intermediarios anfibólicos a partir de los cuales se sintetiza el hem.
- Nombrar la enzima regulada clave de la biosíntesis hepática de hem.
- Explicar por qué, si bien tanto los porfirinógenos como las porfirinas son tetrapirroles, las porfirinas tienen color, mientras que los porfirinógenos son incoloros.
- Apreciar que algunas de las enzimas de la biosíntesis del hem son mitocondriales, y otras son citosólicas.
- Indicar cuáles pasos en la conversión del hem en bilirrubina son citosólicos, y cuáles son mitocondriales.
- Entender las causas y los cuadros clínicos generales de las diversas porfirias.
- Explicar la naturaleza bioquímica de la ictericia, mencionar algunas de sus causas, y sugerir cómo abordar la determinación de sus fundamentos bioquímicos.
- Explicar qué significan "bilirrubina directa" y "bilirrubina indirecta".

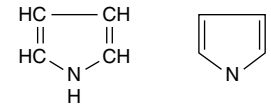
IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los aspectos bioquímicos de las porfirinas y de los pigmentos biliares son temas estrechamente relacionados. El hem se sintetiza a partir de porfirinas y hierro, y los productos de la degradación del hem son los pigmentos biliares y hierro. Los aspectos bioquímicos de las porfirinas y del hem son básicos para entender las diversas funciones de las **hemoproteínas** y las **porfirias**, un grupo de enfermedades causadas por anormalidades en la vía de la biosíntesis de porfirina. Un estado clínico mucho más común es la **ictericia**, una consecuencia de una concentración plasmática alta de bilirrubina, debido sea a sobreproducción de bilirrubina o a fracaso de su excreción. La ictericia ocurre en muchas enfermedades que varían desde anemias hemolíticas, hepatitis viral, y hasta cáncer del páncreas.

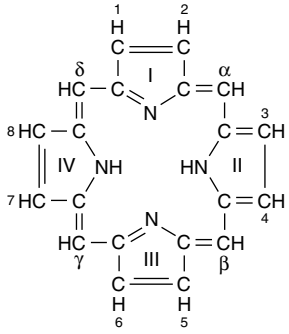
PORFIRINAS

Las **porfirinas** son compuestos cíclicos formados por el enlace de cuatro **anillos pirrol** mediante puentes metina (═HC—) (**figura 31-1**). En las porfirinas que se producen de manera natural, diversas **cadenas laterales** reemplazan los ocho átomos de hidrógeno numerados de los pirroles. La **figura 31-2** muestra una representación resumida de estas sustituciones. En las **figuras 31-3** y **31-4** se ilustran estos sustituyentes en porfirinas seleccionadas.

Las porfirinas forman complejos con iones metálicos que se unen al átomo de nitrógeno de cada uno de los cuatro anillos pirrol. Los ejemplos comprenden las **porfirinas-hierro**, como el **hem** de la hemoglobina, y la porfirina que contiene magnesio, **clorofila**, el pigmento fotosintético de las plantas. Las proteínas hem son omnipresentes en biología, y desempeñan diversas funciones, que incluyen, pero no se limitan a, el transporte y almacenamiento de oxígeno (p. ej., hemoglobina y mioglobina) y el transporte de electrones (p. ej., citocromo *c* y citocromo P450). Los hem son **tetrapirroles**, de los cuales predominan dos tipos, el hem *b* y el hem *c* (**figura 31-5**). En el hem *c* los grupos vinilo del hem *b* son reemplazados por enlaces tioéter covalentes a una apoproteína, típicamente por medio de residuos de cisteinilo. De este modo, a diferencia del hem *b*, el hem *c* no se disocia fácilmente de su apoproteína. Las holoproteínas de vertebrados por lo general se unen a un mol de hem *c* por cada mol, aunque las de no vertebrados pueden unirse significativamente a más hem. Las proteínas que contienen hem se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (**cuadro 31-1**).



Pirrol



Porfirina
($C_{20}H_{14}N_4$)

FIGURA 31-1 La molécula de porfirina. Los anillos están marcados I, II, III y IV. Las posiciones sustituyentes están marcadas del 1 al 8. Los cuatro puentes metenilos (═HC—) están marcados como α, β, γ y δ.

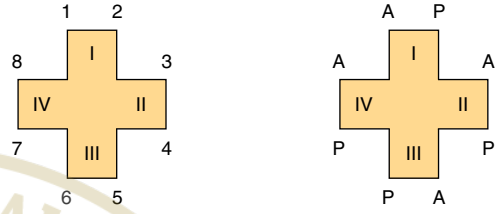


FIGURA 31-2 Representación resumida de una porfirina, uroporfirina III. Izquierda: los números 1 a 8 corresponden a los de la figura 31-1. **Derecha:** los sustituyentes en la uroporfirina III son A = acetato (—CH_2COO^-) y P = propionato (—$CH_2CH_2COO^-$). Note la asimetría de los sustituyentes en el anillo 4.

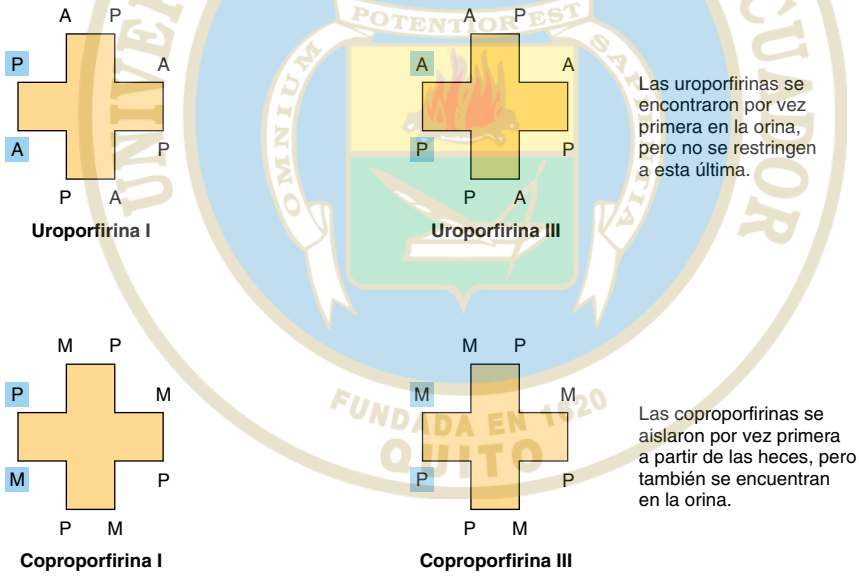
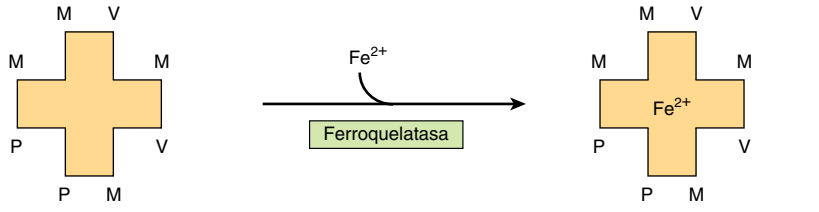


FIGURA 31-3 Uroporfirinas y coproporfirinas. A = acetato; M = metilo; P = propionato. Note que las posiciones de los sustituyentes acetato y propionato resaltados están invertidas en las uroporfirinas I y III, y en las coproporfirinas I y II.



Protoporfirina III
(porfirina original del hem)

Hem
(grupo prostético de la hemoglobina)

FIGURA 31-4 La adición de hierro a la protoporfirina III forma hem. V = vinilo; (—CH═CH_2).

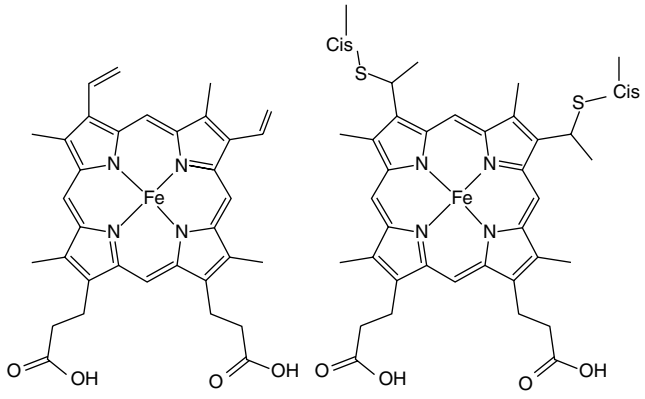


FIGURA 31-5 **Estructuras del hem *b* y del hem *c*.**

CUADRO 31-1 **Ejemplos de algunas hemoproteínas importantes de humanos y de animales**[a]

Proteína	Función
Hemoglobina	Transporte de oxígeno en la sangre
Mioglobina	Almacenamiento de oxígeno en el músculo
Citocromo *c*	Participación en la cadena de transporte de electrones
Citocromo P450	Hidroxilación de xenobióticos
Catalasa	Degradación de peróxido de hidrógeno
Triptófano pirrolasa	Oxidación de triptófano

[a] Las funciones de las proteínas anteriores se describen en diversos capítulos de este libro.

EL HEM SE SINTETIZA A PARTIR DE SUCCINIL-CoA Y GLICINA

La biosíntesis del hem ocurre en casi todas las células de mamífero, excepto en eritrocitos maduros, que carecen de mitocondrias. Alrededor de 85% de la síntesis de hem ocurre en células precursoras eritroides en la **médula ósea**, y la mayor parte del resto en **hepatocitos**. La biosíntesis del hem es iniciada por la condensación de succinil-CoA y glicina en una reacción dependiente de fosfato de piridoxal, catalizada por la **δ-aminolevulinato sintasa** (**ALA sintasa**, EC 2.3.1.37).

(1) Succinil-CoA + glicina → δ-aminolevulinato + CoA-SH + CO_2

Los humanos expresan dos isozimas de la ALA sintasa. La ALAS1 se expresa de manera omnipresente en todo el organismo, mientras que la ALAS2 es expresada en células precursoras de eritrocitos. La reacción es limitante para la biosíntesis de porfirinas en el hígado de mamíferos. El producto inicial formado es el **α-amino-β-cetoadipato**, que es descarboxilado rápidamente a **δ-aminolevulinato** (**figura 31-6**, *arriba*).

La condensación de dos moléculas de ALA, catalizada por la **ALA deshidratasa** (4.2.1.24) citosólica forma **porfobilinógeno:**

(2) 2 δ-Aminolevulinato → porfobilinógeno + 2 H_2O

(**figura 31-6**, abajo). Una metaloproteína cinc, la ALA deshidratasa, es sensible a inhibición por **plomo**, como puede ocurrir en la intoxicación por plomo.

La reacción catalizada por la **hidroximetilbilano sintasa** (uroporfirinógeno I sintasa, EC 2.5.1.61) citosólica forma **hidroximetilbilano**:

(3) 4 Porfobilinógeno + H_2O → hidroximetilbilano + 4 NH_3

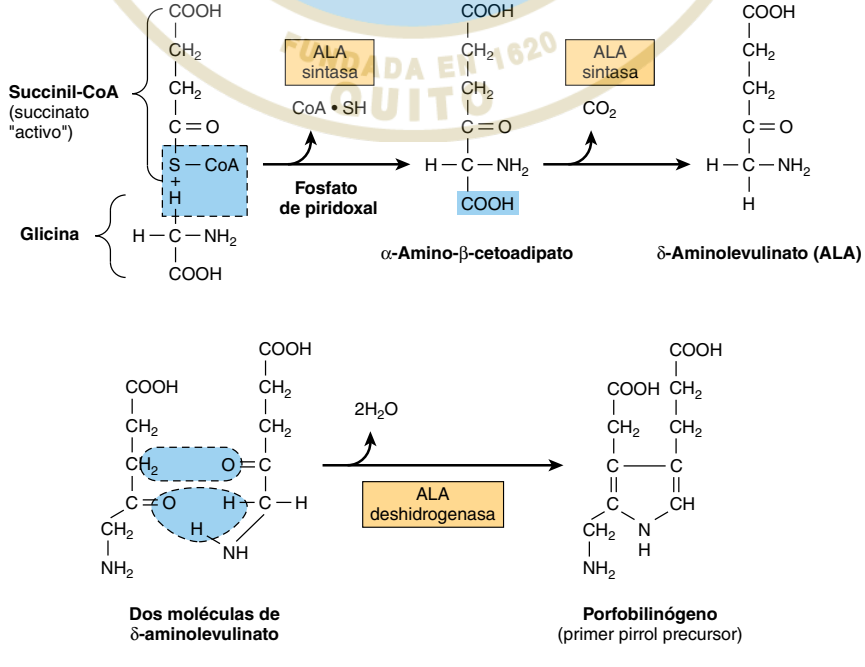


FIGURA 31-6 **Biosíntesis del porfobilinógeno.** La ALA sintasa está presente en las mitocondrias, y la ALA deshidratasa, en el citosol.

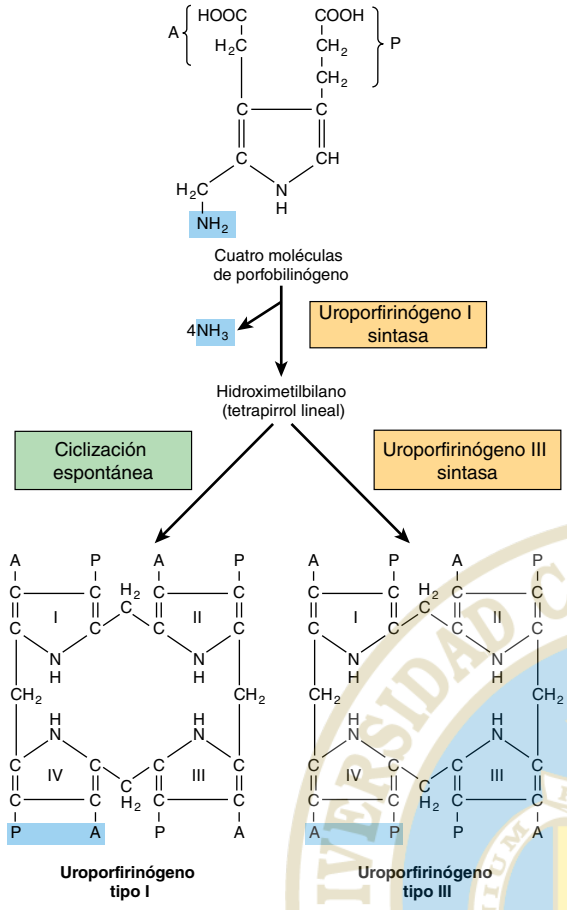


FIGURA 31-7 Conversión de porfobilinógeno en uroporfirinógenos. La linearización del porfobilinógeno es catalizada por la hidroximetilbilano sintasa (también llamada uroporfirinógeno sintasa I, o porfobilinógeno desaminasa).

La catálisis comprende condensación de cabeza a cola de cuatro moléculas de porfirobilinógeno para formar el tetrapirrol lineal hidroximetilbilano (**figura 31-7**, *centro*).

La ciclización de hidroximetilbilano es catalizada por la **uroporfirinógeno III sintasa**, EC 4.2.1.75 citosólica:

(4) Hidroximetilbilano → uroporfirinógeno III + H_2O

forma **uroporfirinógeno III** (**figura 31-7**, *derecha*). El hidroximetilbilano también se puede ciclizar de manera espontánea para formar **uroporfirinógeno I** (**figura 31-7**, *izquierda*), pero en circunstancias normales el uroporfirinógeno formado es casi exclusivamente el isómero tipo III. Sin embargo, los isómeros tipo I de los porfirinógenos se forman en exceso en ciertas porfirias. Dado que los anillos pirrol de estos uroporfirinógenos están conectados por medio de **metileno** (—CH_2—) más que mediante puentes de metina (puentes metenilos), no forman un sistema de anillos conjugado y, así, ellos, y de hecho todos los porfirinógenos, son **incoloros**. Empero, son autooxidados fácilmente a sus respectivas **porfirinas coloreadas**.

A continuación, las cuatro porciones de acetato del uroporfirinógeno III pasan por descarboxilación a sustituyentes metilo (M), lo cual forma **coproporfirinógeno III** en una reacción citosólica catalizada por la **uroporfirinógeno descarboxilasa**, EC 4.1.1.37 (**figuras 31-8** y **31-9**):

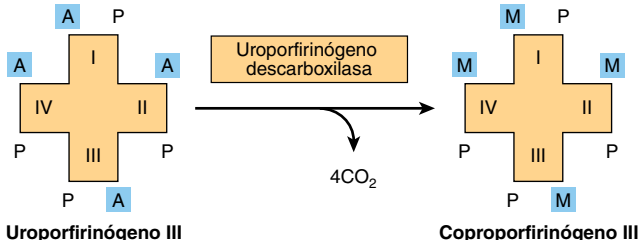


FIGURA 31-8 Descarboxilación del uroporfirinógeno III a coproporfirinógeno III. A = acetilo; M = metilo; P = propionilo.

(5) Uroporfirinógeno III → coproporfirinógeno III + 4 CO_2

Esta descarboxilasa también puede convertir el uroporfirinógeno I, si está presente, en coproporfirinógeno I.

Las tres reacciones finales de la biosíntesis del hem tienen lugar en las mitocondrias. El coproporfirinógeno III entra a las mitocondrias, es convertido en **protoporfirinógeno III** y después en **protoporfirina III**. Estas reacciones son catalizadas por la **coproporfirinógeno oxidasa** (EC 1.3.3.3), que descarboxila y oxida las dos cadenas laterales de ácido propiónico para formar **protoporfirinógeno III**:

(6) Coproporfirinógeno III + O_2 + 2 H^+ → protoporfirinógeno III + 2 CO_2 + 2 H_2O

Esta oxidasa es específica para el coproporfirinógeno tipo III, de modo que las protoporfirinas tipo I por lo general no se forman en humanos.

A continuación, el protoporfirinógeno III es oxidado a **protoporfirina III** en una reacción catalizada por la **protoporfirinógeno oxidasa**, EC 1.3.3.4:

(7) Protoporfirinógeno III + 3 O_2 → protoporfirina III + 3 H_2O_2

El paso final en la síntesis del hem comprende la incorporación de hierro ferroso hacia protoporfirina III en una reacción catalizada por la **ferroquelatasa** (hem sintasa, EC 4.99.1.1):

(8) Protoporfirina III + Fe^{2+} → hem + 2 H^+

En la **figura 31-9** se resumen las etapas, y sus ubicaciones intracelulares, en la biosíntesis de los derivados de porfirina a partir del porfobilinógeno. Para las reacciones anteriores, los números corresponden a los que aparecen en la **figura 31-10** y el **cuadro 31-2**.

La ALA sintasa es la enzima reguladora clave en la biosíntesis hepática del hem

La **ALA sintasa** tiene dos isozimas. La ALAS1 es expresada en todo el organismo; la ALAS2 es expresada en células precursoras de eritrocitos. La reacción catalizada por la ALA sintasa 1 (figura 31-6) es limitante para la biosíntesis de hem en el hígado. Parece ser que el **hem**, probablemente al actuar por medio de una molécula aporrepresora, actúa como un **regulador negativo** de la síntesis de ALAS1 (figura 31-10). De este modo, la tasa de síntesis de ALAS1 aumenta mucho en *ausencia* de hem, pero disminuye en su *presencia*. El hem también afecta la traducción de la enzima y su transferencia del citosol a la mitocondria. La ALAS1 tiene una

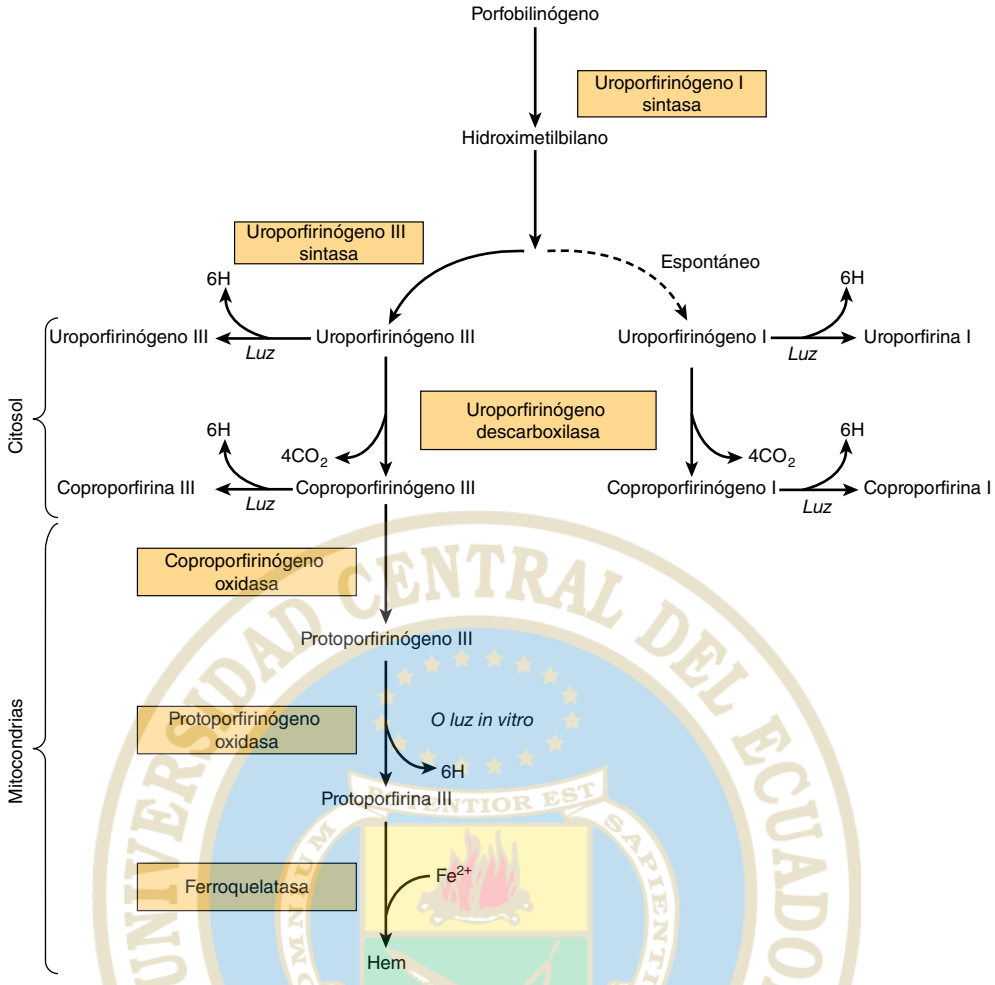


FIGURA 31-9 **Pasos y ubicación celular de las reacciones en la biosíntesis, a partir del porfobilinógeno, de los derivados de porfirina indicados, entre los que destacan el hem.**

vida media breve, que es típica para una enzima que cataliza una reacción limitante de la tasa.

Fármacos cuyo metabolismo requiere la hemoproteína citocromo P450 aumentan la biosíntesis de citocromo P450. El agotamiento resultante del fondo común de hem intracelular induce la síntesis de ALAS1, y la tasa de síntesis de hem aumenta para satisfacer la demanda metabólica. La biosíntesis de ALAS2 no está regulada por retroacción por el hem y, por ende, no es inducida por estos fármacos.

LAS PORFIRINAS SON COLOREADAS Y TIENEN FLUORESCENCIA

Mientras que los **porfirinógenos son incoloros**, las diversas **porfirinas son coloreadas**. Los **dobles enlaces conjugados** en los anillos pirrol y los grupos metileno de porfirinas que forman enlaces (ausentes en los porfirinógenos) son la causa de sus espectros de absorción y fluorescencia característicos. Los espectros visible y ultravioleta de las porfirinas y de los derivados de la porfirina son útiles para su identificación (**figura 31-11**). La banda de absorción aguda **cerca de 400 nm**, una característica distintiva compartida por todas las porfirinas, se denomina la **banda de Soret** en honor a su descubridor, el físico francés Charles Soret.

Las porfirinas disueltas en ácidos minerales fuertes o en solventes orgánicos, e iluminadas con luz ultravioleta emiten una **fluorescencia** roja fuerte, una propiedad que a menudo se usa para detectar pequeñas cantidades de porfirinas libres. Las propiedades fotodinámicas de las porfirinas han sugerido su posible uso en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, un procedimiento llamado **fototerapia de cáncer**. Dado que los tumores a menudo captan más porfirinas que los tejidos normales, se administran **hematoporfirina** o compuestos relacionados a un paciente con un tumor apropiado. A continuación, el tumor es expuesto a un **láser de argón** para excitar las porfirinas, lo que produce efectos citotóxicos.

La espectrofotometría se usa para detectar porfirinas y sus precursores

En las **porfirias** hay excreción aumentada de coproporfirinas y uroporfirinas. Cuando están presentes en la orina o las heces, pueden separarse mediante extracción con solventes apropiados, y a continuación se identifican y cuantifican con métodos espectrofotométricos.

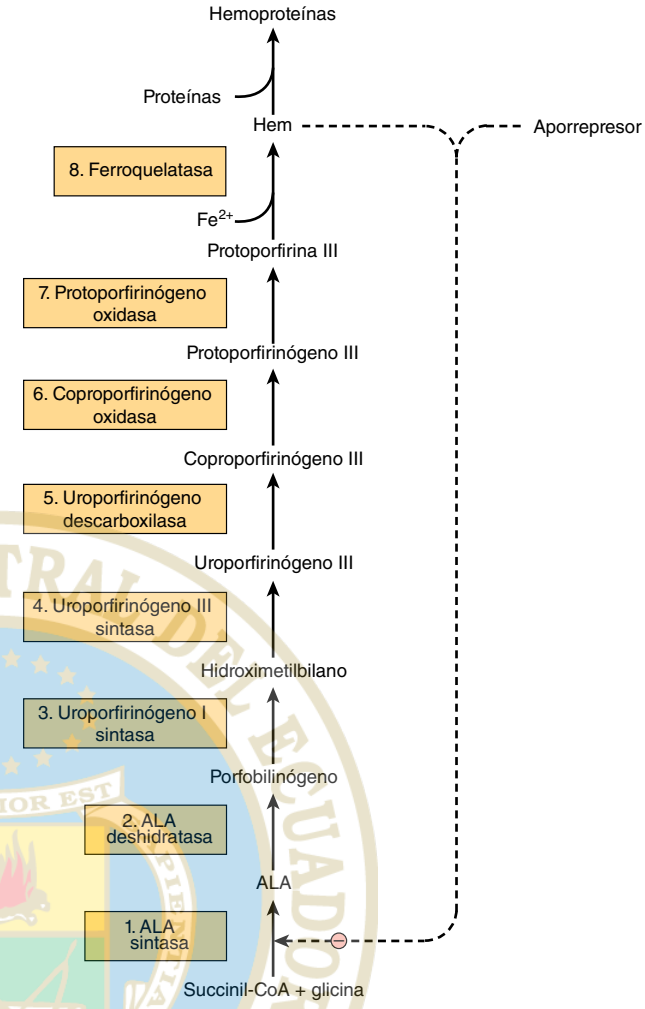


FIGURA 31-10 Intermediarios, enzimas y regulación de la síntesis del hem. Los números de las enzimas que catalizan las reacciones indicadas son los que se utilizan en el texto acompañante y en la columna 1 del cuadro 31-2. Las enzimas 1, 6, 7 y 8 son mitocondriales, pero las enzimas 2 a 5 son citosólicas. La regulación de la síntesis hepática de hem ocurre en la ALA sintasa (ALAS1) mediante un mecanismo de represión-desrepresión mediado por hem y su aporrepresor hipotético. Las líneas discontinuas indican la regulación negativa ⊖ por represión. Las mutaciones en el gen que codifica para la enzima I causan anemia sideroblástica ligada a X. Las mutaciones en los genes que codifican para las enzimas 2 a 8 dan lugar a las porfirias.

CUADRO 31-2 Resumen de los principales datos en las porfirias[a]

Enzima afectada[b]	Tipo, clase y número de OMIM	Principales signos y síntomas	Resultados de pruebas de laboratorio
1. ALA sintasa 2 (ALAS2), EC 2.3.1.37	Anemia sideroblástica ligada a X[c] (eritropoyética) (OMIM 301300)	Anemia	Disminución de los recuentos de eritrocitos y de hemoglobina
2. ALA deshidratasa EC 4.2.1.24	Deficiencia de ALA deshidratasa (hepática) (OMIM 125270)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA y coproporfirina III urinarias aumentadas
3. Uroporfirinógeno I sintasa[d] EC 2.5.1.61	Porfiria intermitente aguda (hepática) (OMIM 176000)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA y PBG[e] urinarios aumentados
4. Uroporfirinógeno III sintasa EC 4.2.1.75	Eritropoyética congénita (eritropoyética) (OMIM 263700)	Fotosensibilidad	Uroporfirina I urinaria, fecal y eritrocítica aumentada
5. Uroporfirinógeno descarboxilasa EC 4.1.1.37	Porfiria cutánea tarda (hepática) (OMIM 176100)	Fotosensibilidad	Uroporfirina I urinaria aumentada
6. Coproporfirinógeno oxidasa EC 1.3.3.3	Coproporfiria hereditaria (hepática) (OMIM 121300)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA, PBG y coproporfirina III urinarios, y coproporfirina III fecal, aumentados
7. Protoporfirinógeno oxidasa EC 1.3.3.4	Porfiria variegata (hepática) (OMIM 176200)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA, PBG y coproporfirina III urinarios, y protoporfirina IX fecal, aumentados
8. Ferroquelatasa EC 4.99.1.1	Protoporfiria (eritropoyética) (OMIM 177000)	Fotosensibilidad	Protoporfirina IX fecal y eritrocítica aumentadas

[a] Sólo se listan los datos bioquímicos en las etapas activas de estas enfermedades. Ciertas anormalidades bioquímicas son detectables durante las etapas latentes de algunas de las enfermedades anteriores. Las enfermedades 3, 5 y 8 en general son las porfirias más prevalentes. La enfermedad 2 es rara.
[b] La numeración de las enzimas en este cuadro corresponde a la que se usa en la figura 31-10.
[c] La anemia sideroblástica ligada a X no es una porfiria, pero se incluye aquí porque la ALA sintasa está involucrada.
[d] Esta enzima también se llama PBG desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.
[e] PBG = porfirobilinógeno III.
Abreviaturas: ALA, ácido δ-aminolevulínico; PBG, porfobilinógeno.

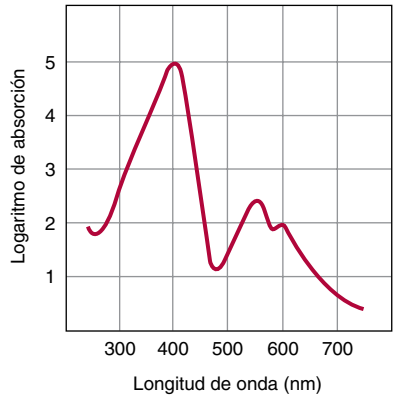


FIGURA 31-11 Espectro de absorción de la hematoporfirina. Se muestra el espectro de una solución a 0.01% de hematoporfirina en HCl a 5%.

TRASTORNOS DE LA BIOSÍNTESIS DEL HEM

Los trastornos de la biosíntesis del hem pueden ser genéticos o adquiridos. Un ejemplo de un defecto adquirido es la intoxicación por plomo. El plomo puede desactivar la ferroquelatasa y la ALA deshidratasa al combinarse con grupos tiol esenciales. Los signos son concentración alta de protoporfirina en los eritrocitos, y concentraciones urinarias altas de ALA y coproporfirina.

Los trastornos genéticos del metabolismo del hem y del metabolismo de la bilirrubina (véase más adelante) comparten las características que siguen con los trastornos metabólicos de la biosíntesis de urea (capítulo 28):

1. Pueden surgir signos y síntomas clínicos similares o idénticos por diferentes mutaciones en genes que codifican para una enzima dada o una enzima que cataliza una reacción sucesiva.
2. La terapia racional requiere un entendimiento de los aspectos bioquímicos de las reacciones catalizadas por enzima en individuos tanto normales como con alteraciones.
3. La identificación de los intermediarios y de los productos secundarios que se acumulan antes de un bloqueo metabólico puede proporcionar la base para pruebas de detección metabólicas que pueden implicar la reacción alterada.
4. El diagnóstico definitivo comprende valoración cuantitativa de la actividad de la(s) enzima(s) que se sospecha que es (son) defectuosa(s).
5. La comparación de la secuencia de DNA del gen que codifica para una enzima mutante dada con la del gen natural puede identificar la(s) mutación(es) específica(s) que causa(n) la enfermedad.

Porfirias

Los signos y síntomas de porfiria se producen por una **deficiencia** de intermediarios más allá del bloqueo enzimático, o por la **acumulación** de metabolitos antes del bloqueo. En el cuadro 31-2 se listan seis tipos principales de **porfiria** que reflejan actividad baja o nula de enzimas que catalizan las reacciones 2 a 8 de la figura 31-10. Posiblemente debido a letalidad potencial, no hay defecto conocido de la ALAS1. Los individuos con actividad baja de ALAS2 presentan anemia, no porfiria (cuadro 31-2). La porfiria consiguiente a actividad baja de la ALA deshidratasa, llamada porfiria con deficiencia de ALA deshidratasa, es en extremo rara.

Porfiria eritropoyética congénita

Si bien casi todas las porfirias se heredan de una **manera autosómica dominante**, la porfiria eritropoyética congénita se hereda de un **modo recesivo**. La enzima defectuosa en la porfiria eritropoyética congénita es la **uroporfirinógeno III sintasa**, el catalizador para la reacción 4. La fotosensibilidad y la desfiguración grave que se observan en algunas víctimas de porfiria eritropoyética congénita las ha sugerido como prototipos de los llamados "hombres lobo".

Porfiria intermitente aguda

La enzima defectuosa en la porfiria intermitente aguda es la hidroximetilbilano sintasa (uroporfirinógeno I sintasa), el catalizador para la reacción 3. La ALA y el porfirobilinógeno se acumulan en tejidos y líquidos corporales (**figura 31-12**).

Bloqueos más adelante en la vía

Los bloqueos más adelante en la vía dan lugar a la **acumulación de los porfirinógenos** indicados en las figuras 31-10 y 31-12. Sus productos de oxidación, los derivados porfirina correspondientes, causan **fotosensibilidad** a luz visible de longitud de onda de alrededor de 400 nm. Posiblemente como resultado de su excitación y reacción con oxígeno molecular, los radicales de oxígeno resultantes lesionan lisosomas y otros orgánulos subcelulares, con lo cual se liberan enzimas degradantes que causan grados variables de daño de la piel, incluso formación de tejido cicatrizal.

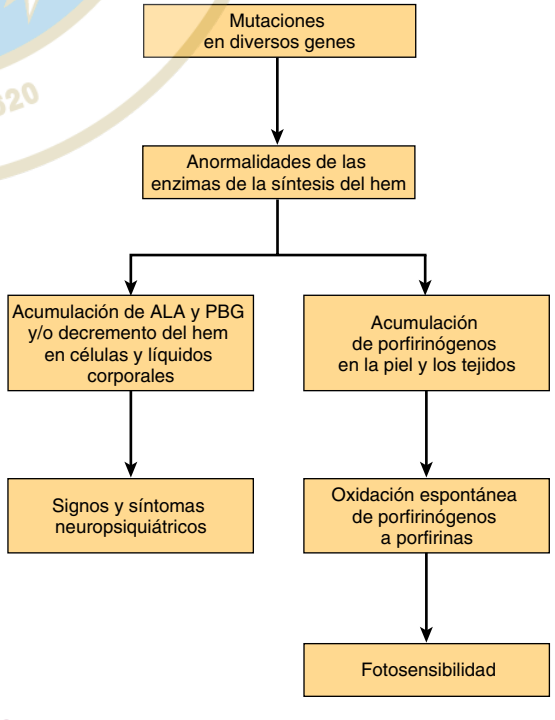


FIGURA 31-12 Base bioquímica de los principales signos y síntomas de las porfirias.

CLASIFICACIÓN DE LAS PORFIRIAS

Las porfirias pueden denominarse **eritropoyéticas** o **hepáticas** con base en los órganos más afectados, típicamente la médula ósea y el hígado (cuadro 31-2). Concentraciones de hem, precursores tóxicos, o metabolitos, diferentes y variables, probablemente explican por qué porfirias específicas afectan de manera diferencial algunos tipos de células, y órganos. De manera alternativa, las porfirias pueden clasificarse como **agudas** o **cutáneas** con base en sus características clínicas. El diagnóstico de un tipo específico de porfiria por lo general puede establecerse a partir de la consideración de los antecedentes clínicos y familiares, el examen físico, y análisis de laboratorio apropiados. En el cuadro 31-2 se listan los principales signos, síntomas y datos de laboratorio importantes en los seis tipos principales de porfiria.

Porfiria inducida por fármacos

Ciertos fármacos (p. ej., barbitúricos, griseofulvina) inducen la producción de citocromo P450. En pacientes con porfiria, esto puede precipitar un ataque de porfiria al disminuir las cifras de hem. La depresión compensadora de la síntesis de ALAS1 a continuación da por resultado concentraciones aumentadas de precursores de hem en potencia perjudiciales.

Posibles tratamientos para porfirias

Si bien finalmente quizá se haga posible el tratamiento en el ámbito de gen, el tratamiento actual de las porfirias es en esencia sintomático. Esto incluye evitar fármacos que inducen la producción de citocromo P450, la ingestión de grandes cantidades de carbohidrato, y la administración de hematina para reprimir la síntesis de ALAS1 a fin de disminuir la producción de precursores de hem perjudiciales. Los pacientes que muestran fotosensibilidad se benefician a partir de pantallas solares, y posiblemente por la administración de β-caroteno, que parece disminuir la producción de radicales libres, lo que disminuye la fotosensibilidad.

EL CATABOLISMO DE HEM PRODUCE BILIRRUBINA

En circunstancias normales, en adultos humanos se destruyen alrededor de 200 000 millones de eritrocitos por día. De este modo, en un ser humano de 70 kg hay recambio de alrededor de 6 g de **hemoglobina** al día. La **globina** es degradada a los aminoácidos que la constituyen, el hierro liberado entra al fondo común de hierro, y todos los productos se vuelven a usar. La porción **porfirina** libre de hierro del hem también se degrada, principalmente en las células reticuloendoteliales del hígado, el bazo y la médula ósea.

El catabolismo del hem que proviene de todas las proteínas hem se lleva a cabo en la **fracción microsomal** de células por la **hem oxigenasa**, EC 1.4.99.3. La síntesis de hem oxigenasa es inducible por sustrato, y el hem también sirve como un sustrato y como un cofactor para la reacción. El hierro del hem que llega a la hem oxigenasa por lo general se ha oxidado a su **forma férrica (hemina)**. La conversión de un mol de hem-Fe^{3+} en biliverdina, monóxido de carbono y Fe^{3+} consume 3 moles de O_2, más siete electrones proporcionados por NADH y NADPH-citocromo P450 reductasa:

$$Fe^{3+}\text{-Hem} + 3\ O_2 + 7\ e^- \rightarrow \text{biliverdina} + CO + Fe^{3+}$$

Pese a su alta afinidad por el hem-Fe^{2+} (capítulo 6), el monóxido de carbono producido no inhibe gravemente la hem oxigenasa. Las aves y los mamíferos excretan directamente la biliverdina de color verde. En humanos, la **biliverdina reductasa** (EC 1.3.1.24) reduce el puente de metileno central de la biliverdina a un grupo metilo, lo que produce el pigmento amarillo **bilirrubina**:

$$\text{Biliverdina} + \text{NADPH} + H^+ \rightarrow \text{bilirrubina} + \text{NADP}^+$$

La **figura 31-13** resume las dos reacciones anteriores.

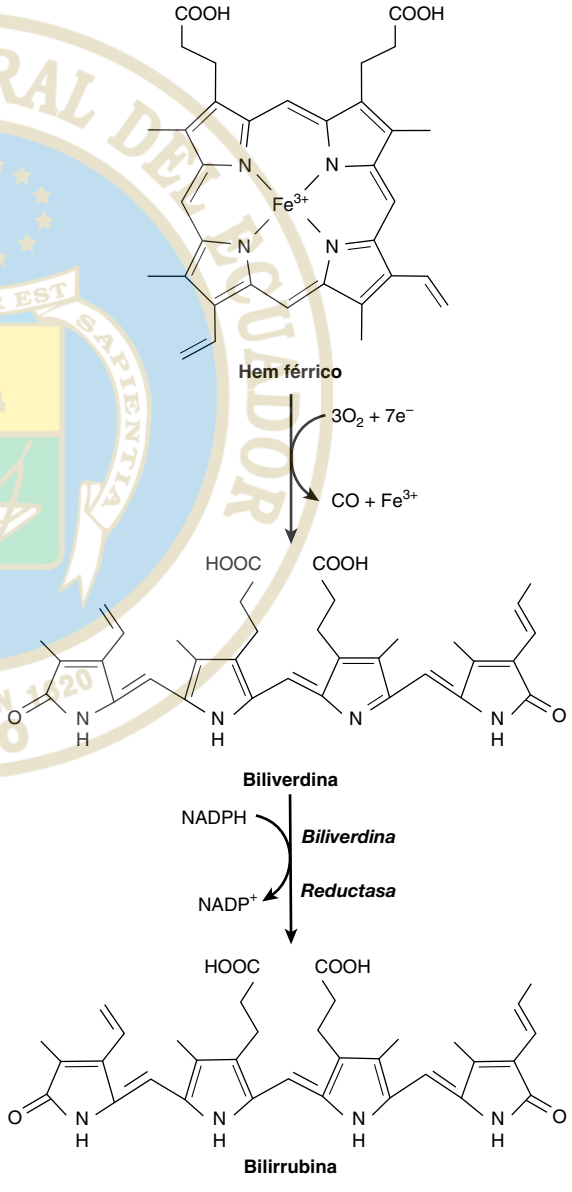


FIGURA 31-13 Conversión de hem férrico en biliverdina y después en bilirrubina. El sistema de hem oxigenasa forma biliverdina, que la biliverdina reductasa reduce a bilirrubina. La conversión de un mol de hem-Fe^{3+} en biliverdina, monóxido de carbono y Fe^{3+} consume 3 moles de O_2, más siete electrones proporcionados por el NADH y NADPH-citocromo P450 reductasa.

Puesto que 1 g de hemoglobina da alrededor de 35 mg de bilirrubina, **en los adultos humanos se forman 250 a 350 mg de bilirrubina por día**; ésta se deriva principalmente de la hemoglobina, pero también de eritropoyesis ineficaz y del catabolismo de otras proteínas hem.

La conversión del hem en bilirrubina por las células reticuloendoteliales puede observarse conforme el color púrpura del hem en un **hematoma** se convierte lentamente en el pigmento amarillo de la bilirrubina.

La bilirrubina es transportada al hígado unida a albúmina sérica

La bilirrubina sólo es escasamente hidrosoluble, pero la bilirrubina unida a albúmina sérica es fácilmente transportada al hígado. La albúmina parece tener tanto un sitio de alta afinidad como un sitio de baja afinidad para la bilirrubina. El sitio de alta afinidad puede unirse a alrededor de 25 mg de bilirrubina/100 mL de plasma. La bilirrubina unida de manera más laxa se puede desprender y difundir con facilidad a los tejidos, y los antibióticos y ciertos otros fármacos pueden competir con la bilirrubina y desplazarla desde el sitio de alta afinidad de la albúmina.

El metabolismo adicional de la bilirrubina ocurre principalmente en el hígado

El catabolismo hepático de bilirrubina tiene lugar en tres etapas: captación por el hígado, conjugación con ácido glucurónico, y secreción en la bilis.

Captación de bilirrubina por células del parénquima hepático

La bilirrubina es eliminada de la albúmina y captada en la superficie sinusoidal de hepatocitos mediante un **sistema de transporte facilitado** de gran capacidad, saturable. Incluso en estados patológicos, el transporte no parece ser limitante para el metabolismo de la bilirrubina. La captación neta de bilirrubina depende de su **eliminación** por medio de metabolismo subsiguiente. Una vez internalizada, la bilirrubina se une a proteínas citosólicas como la glutatión *S*-transferasa, previamente conocida como **ligandina**, para evitar que la bilirrubina vuelva a entrar al torrente sanguíneo.

Conjugación de la bilirrubina con glucuronato

La bilirrubina es **no polar** y persistiría en las células (p. ej., unida a lípidos) si no fuera convertida en una forma más hidrosoluble. La bilirrubina es convertida en una molécula más **polar** mediante conjugación con ácido glucurónico. Una UDP-glucosil transferasa (UDP-glucuronil transferasa) (EC 2.4.1.17) específica para bilirrubina del retículo endoplasmático cataliza la transferencia por pasos a la bilirrubina de dos porciones glucosilo provenientes del UDP-glucuronato:

$$\text{Bilirrubina} + \text{UDP-glucuronato} \rightarrow \text{monoglucurónido de bilirrubina} + \text{UDP}$$

$$\text{Monoglucurónido de bilirrubina} + \text{UDP-glucuronato} \rightarrow \text{bilirrubina diglucurónido} + \text{UDP}$$

(**figura 31-14**).

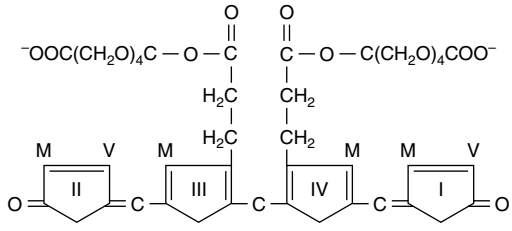


FIGURA 31-14 Estructura del diglucurónido de bilirrubina. Las porciones de glucuronato están unidas por medio de enlaces éster a los dos grupos propionato de la bilirrubina. En clínica, el diglucurónido también se denomina bilirrubina de "reacción directa".

Secreción de bilirrubina hacia la bilis

La secreción de bilirrubina conjugada hacia la bilis ocurre mediante un mecanismo de **transporte activo,** que probablemente es limitante para todo el proceso de metabolismo hepático de la bilirrubina. La proteína involucrada es **un transportador de anión orgánico multiespecífico (MOAT)** situado en la **membrana plasmática** de los canalículos biliares. Un miembro de la familia de los transportadores de secuencia de unión a ATP, el MOAT transporta varios aniones orgánicos. El transporte hepático de bilirrubina conjugada hacia la bilis es **inducible** por los mismos fármacos que pueden inducir la conjugación de bilirrubina. De este modo, la conjugación y excreción de bilirrubina constituyen una unidad funcional coordinada.

Casi toda la bilirrubina que se excreta en la bilis de mamíferos es diglucurónido de bilirrubina. La actividad de bilirrubina UDP-glucuronosil transferasa puede ser **inducida** por varios fármacos, entre ellos el fenobarbital. No obstante, cuando existen conjugados de bilirrubina anormalmente en el plasma humano (p. ej., en la ictericia obstructiva), son predominantemente **monoglucurónidos**. La **figura 31-15** resume los tres procesos principales invo-

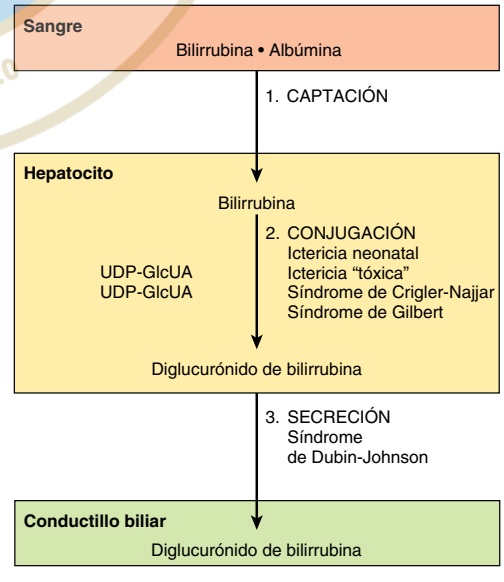


FIGURA 31-15 Diagrama de los tres procesos principales (captación, conjugación y secreción) involucrados en la transferencia de bilirrubina de la sangre a la bilis. Ciertas proteínas de los hepatocitos se unen a la bilirrubina intracelular, y pueden evitar su flujo de salida hacia el torrente sanguíneo. También se muestran los procesos afectados por ciertas afecciones que causan ictericia.

lucrados en la transferencia de bilirrubina de la sangre a la bilis. También se indican los sitios que son afectados en varias enfermedades que causan ictericia.

Las bacterias intestinales reducen la bilirrubina conjugada urobilinógeno

Cuando la bilirrubina conjugada llega al íleon terminal y el intestino grueso, las porciones glucuronosil son eliminadas por **β-glucuronidasas** bacterianas (EC 3.2.1.31) específicas. La reducción subsiguiente por la flora fecal forma un grupo de tetrapirroles incoloros llamados **urobilinógenos**. Porciones pequeñas de urobilinógenos son absorbidas en el íleon terminal y el intestino grueso, y después son reexcretadas por medio del **ciclo enterohepático del urobilinógeno**. En condiciones anormales, en particular cuando se forma pigmento biliar excesivo, o cuando la enfermedad hepática altera este ciclo intrahepático, el urobilinógeno también puede excretarse en la orina. Casi todos los urobilinógenos incoloros formados en el colon son **oxidados** ahí hacia **urobilinas** coloreadas y excretados en las heces. El oscurecimiento de las heces al permanecer expuestas al aire depende de la oxidación de urobilinógenos residuales a urobilinas.

Medición de la bilirrubina en el suero

En la cuantificación de la bilirrubina se emplea un método colorimétrico que se basa en el color rojizo-púrpura que se forma cuando la bilirrubina reacciona con ácido sulfanílico diazotizado. Una valoración efectuada en *ausencia* de metanol añadido mide la **"bilirrubina directa"**, que es **glucurónido de bilirrubina**. Una valoración efectuada en *presencia* de metanol añadido mide la **bilirrubina total**. La *diferencia* entre la bilirrubina total y la bilirrubina directa se conoce como **"bilirrubina indirecta"** y es **bilirrubina no conjugada**.

LA HIPERBILIRRUBINEMIA CAUSA ICTERICIA

La **hiperbilirrubinemia**, una concentración de bilirrubina en la sangre que excede 1 mg/dL (17 μmol/L), puede sobrevenir por la **producción** de más bilirrubina que la que el hígado normal puede excretar, o por el fracaso de un hígado dañado para **excretar** cantidades normales de bilirrubina. En ausencia de daño hepático, la **obstrucción** de los conductos excretores del hígado evita la excreción de bilirrubina, y causará también hiperbilirrubinemia. En todas estas situaciones, cuando la concentración sanguínea alcanza 2 a 2.5 mg de bilirrubina por decilitro, se difunde hacia los tejidos, que se tornan amarillos, un estado llamado **ictericia**.

Aparición de bilirrubina no conjugada en la sangre

Dependiendo del tipo de bilirrubina presente en el plasma, la hiperbilirrubinemia puede clasificarse como **hiperbilirrubinemia por retención** debida a la sobreproducción de bilirrubina, o como **hiperbilirrubinemia por regurgitación**, debida al reflujo hacia el torrente sanguíneo como consecuencia de obstrucción biliar.

CUADRO 31-3 Algunas causas de hiperbilirrubinemia no conjugada y conjugada

No conjugada	Conjugada
Anemias hemolíticas	Obstrucción del árbol biliar
"Ictericia fisiológica" neonatal	Síndrome de Dubin-Johnson
Síndromes de Crigler-Najjar tipos I y II	Síndrome de Rotor
Síndrome de Gilbert	Enfermedades hepáticas como los diversos tipos de hepatitis
Hiperbilirrubinemia tóxica	

Estas causas se comentan brevemente en el texto. Las causas comunes de obstrucción del árbol biliar son un cálculo en el colédoco, y cáncer de la cabeza del páncreas. Diversas enfermedades hepáticas (p. ej., los diversos tipos de hepatitis) son causas frecuentes de hiperbilirrubinemia predominantemente conjugada.

Debido a su **hidrofobicidad**, sólo la bilirrubina *no conjugada* puede cruzar la barrera hematoencefálica hacia el sistema nervioso central. De este modo, la encefalopatía debida a hiperbilirrubinemia (**kernícterus**) sólo ocurre con bilirrubina no conjugada, como en la hiperbilirrubinemia por retención. De manera alternativa, debido a su hidrosolubilidad, sólo la bilirrubina *conjugada* puede aparecer en la orina. En consecuencia, la **ictericia colúrica** (coluria es la presencia de pigmentos biliares en la orina) sólo ocurre en la hiperbilirrubinemia por regurgitación, y la **ictericia acolúrica** sólo ocurre en presencia de un exceso de bilirrubina no conjugada. En el **cuadro 31-3** se listan algunas causas de hiperbilirrubinemia no conjugada y conjugada. Una hiperbilirrubinemia moderada acompaña a las **anemias hemolíticas**. La hiperbilirrubinemia por lo general es modesta (< 4 mg de bilirrubina por decilitro; < 68 μmol/L) a pesar de hemólisis extensa, debido a la alta capacidad de un hígado sano para metabolizar bilirrubina.

TRASTORNOS DEL METABOLISMO DE LA BILIRRUBINA

"Ictericia fisiológica" neonatal

La hiperbilirrubinemia no conjugada propia de la "ictericia fisiológica" neonatal se produce por hemólisis acelerada y un sistema hepático inmaduro para la captación, conjugación y secreción de bilirrubina. En esta afección transitoria, la actividad de la bilirrubina-glucosil transferasa, y probablemente también la síntesis de UDP-glucuronato, están reducidas. Cuando la concentración plasmática de bilirrubina no conjugada excede la que puede quedar unida estrechamente a albúmina (20 a 25 mg/dL), la bilirrubina puede cruzar la barrera hematoencefálica. Si se deja sin tratamiento, la **encefalopatía tóxica hiperbilirrubinémica** o **kernícterus**, resultante, puede dar lugar a retraso mental. La exposición de recién nacidos ictéricos a luz azul (fototerapia) promueve la excreción hepática de bilirrubina no conjugada al convertir parte a derivados que se excretan en la bilis, y puede administrarse fenobarbital, un promotor del metabolismo de la bilirrubina.

Defectos de la bilirrubina UDP-glucuronosil transferasa

Las glucuronosil transferasas (EC 2.4.1.17) son una familia grande de enzimas con especificidades de sustrato que difieren. Casi todas sirven para aumentar la polaridad de diversos fármacos y metabolitos de fármacos y, así, facilitar su excreción. Las mutaciones en el gen que codifica para la **bilirrubina UDP-glucuronosil transferasa** pueden hacer que la enzima codificada tenga actividad reducida o nula. Los síndromes cuya presentación clínica refleja la gravedad del deterioro son el síndrome de Gilbert, y dos tipos del síndrome de Crigler-Najjar.

Síndrome de Gilbert

Con tal que en el síndrome de Gilbert se retenga alrededor de 30% de la actividad de la bilirrubina UDP-glucuronosil transferasa, la enfermedad es inocua.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo I

La ictericia congénita grave (más de 20 mg de bilirrubina por decilitro de suero) y el daño cerebral acompañante propios del síndrome de Crigler-Najjar tipo I reflejan la falta completa de actividad de UDP-glucuronosil transferasa hepática. La fototerapia disminuye un poco la concentración plasmática de bilirrubina, pero el fenobarbital no tiene efecto benéficioso. La enfermedad a menudo es mortal en el transcurso de los primeros 15 meses de vida.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo II

En el síndrome de Crigler-Najjar tipo II, se retiene algo de actividad de la bilirrubina UDP-glucuronosil transferasa. En consecuencia, esta enfermedad tiene una evolución más benigna que el síndrome tipo I. La bilirrubina sérica tiende a no exceder 20 mg de bilirrubina por decilitro de suero, y los pacientes muestran respuesta al tratamiento con fenobarbital en dosis altas.

Hiperbilirrubinemia tóxica

La **hiperbilirrubinemia no conjugada** puede producirse por **disfunción hepática inducida por toxina** causada por cloroformo, arsfenaminas, tetracloruro de carbono, acetaminofén, virus de la hepatitis, cirrosis, o intoxicación por el hongo *Amanita*. Estos trastornos adquiridos comprenden daño de células del parénquima hepático, que altera la conjugación de bilirrubina.

La obstrucción del árbol biliar es la causa más común de hiperbilirrubinemia conjugada

La **hiperbilirrubinemia conjugada** comúnmente se produce por bloqueo de los conductos hepático o colédoco, más a menudo debido a un **cálculo** o **cáncer de la cabeza del páncreas** (**figura 31-16**). El diglucurónido de bilirrubina que no puede excretarse regurgita hacia las venas y los linfáticos hepáticos, aparece bilirrubina conjugada en la sangre y la orina (**ictericia colúrica**) y las heces típicamente son de color pálido.

El término **ictericia colestática** incluye todos los casos de ictericia obstructiva extrahepática, y la ictericia con hiperbilirrubinemia conjugada debida a microobstrucción de conductillos biliares intrahepáticos por hepatocitos dañados, tumefactos, como puede ocurrir en la hepatitis infecciosa.

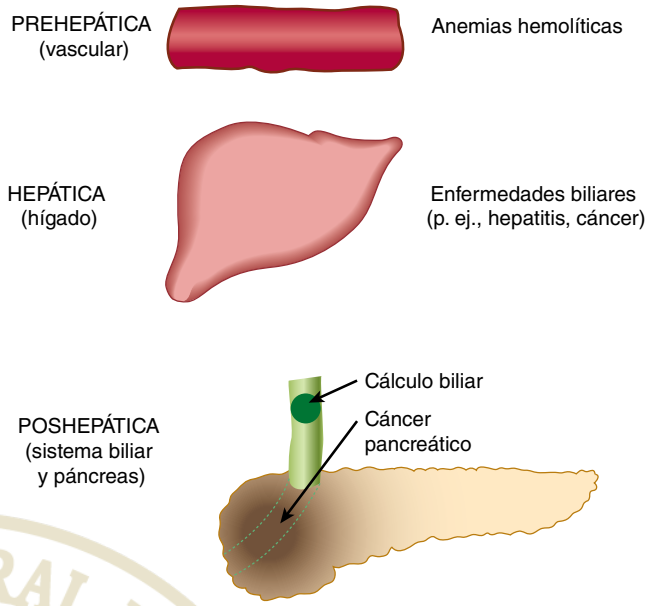


FIGURA 31-16 Diagrama de algunas causas importantes de ictericia. La **ictericia prehepática** indica eventos en el torrente sanguíneo; la principal causa serían diversas formas de anemia hemolítica (capítulo 53). **Ictericia hepática** significa eventos en el hígado, como los diversos tipos de hepatitis, u otras formas de enfermedad hepática (p. ej., cáncer). **Ictericia poshepática** se refiere a eventos en el árbol biliar, para los cuales las principales causas son obstrucción del colédoco por un cálculo (cálculo biliar) o por cáncer de la cabeza del páncreas.

Síndrome de Dubin-Johnson

Este trastorno autosómico recesivo benigno consta de **hiperbilirrubinemia conjugada** durante la niñez o la vida adulta. La hiperbilirrubinemia se origina por mutaciones en el gen que codifica para la proteína involucrada en la **secreción** de bilirrubina conjugada hacia la bilis.

Parte de la bilirrubina conjugada puede unirse de manera covalente a albúmina

Cuando la concentración plasmática de bilirrubina conjugada permanece alta, una fracción puede unirse de manera covalente a la albúmina. Esta fracción, llamada **δ-bilirrubina**, tiene una **vida media más prolongada** en el plasma que la bilirrubina conjugada convencional, y permanece alta durante la recuperación de ictericia obstructiva. Por ende, algunos pacientes siguen pareciendo ictéricos incluso después de que la concentración de bilirrubina conjugada circulante ha vuelto a lo normal.

El urobilinógeno y la bilirrubina urinarios son indicadores clínicos

En la **obstrucción completa del conducto biliar**, la bilirrubina no tiene acceso al intestino para conversión en urobilinógeno, de modo que no hay urobilinógeno en la orina. La presencia de bilirrubina conjugada en la orina sin urobilinógeno sugiere ictericia obstructiva intrahepática o poshepática.

CUADRO 31-4 Resultados de laboratorio en pacientes normales y en pacientes con tres diferentes causas de ictericia

Estado o enfermedad	Bilirrubina sérica	Urobilinógeno urinario	Bilirrubina urinaria	Urobilinógeno fecal
Normal	Directa: 0.1 a 0.4 mg/dL	0 a 4 mg/24 h	Ausente	40 a 280 mg/24 h
	Indirecta: 0.2 a 0.7 mg/dL			
Anemia hemolítica	↑ Indirecta	Aumentada	Ausente	Aumentada
Hepatitis	↑ Directa e indirecta	Disminuida si hay microobstrucción	Presente si ocurre microobstrucción	Disminuida
Ictericia obstructiva[a]	↑ Directa	Ausente	Presente	Entre ínfima y nula

[a] Las causas más comunes de ictericia obstructiva (poshepática) son cáncer de la cabeza del páncreas y un cálculo alojado en el colédoco. La presencia de bilirrubina en la orina a veces se denomina coluria —por ende, la hepatitis y la obstrucción del colédoco causan ictericia colúrica, mientras que la ictericia propia de la anemia hemolítica se denomina acolúrica—. Los resultados de laboratorio en pacientes con hepatitis son variables, dependiendo de la extensión del daño de las células del parénquima y de la magnitud de la microobstrucción de conductillos biliares. Las concentraciones séricas de **alanina aminotransferasa** y de **aspartato aminotransferasa** por lo general están notoriamente aumentadas en presencia de hepatitis, mientras que la concentración sérica de **fosfatasa alcalina** está alta en la enfermedad hepática obstructiva.

En la **ictericia secundaria a hemólisis**, la producción aumentada de bilirrubina lleva a incremento de la producción de **urobilinógeno**, que aparece en la orina en grandes cantidades. En la ictericia hemolítica por lo general no se encuentra bilirrubina en la orina, de modo que la combinación de urobilinógeno aumentado y ausencia de bilirrubina es sugestiva de ictericia hemolítica. La destrucción aumentada de sangre por cualquier causa desencadena un incremento del urobilinógeno urinario.

En el **cuadro 31-4** se resumen los resultados de laboratorio obtenidos en pacientes con ictericia debida a causas prehepáticas, hepáticas o poshepáticas: **anemia hemolítica** (prehepática), **hepatitis** (hepática) y **obstrucción del colédoco** (poshepática) (figura 31-16). Las pruebas de laboratorio en **sangre** (evaluación de la posibilidad de una anemia hemolítica, y medición del tiempo de protrombina) y **suero** (p. ej., electroforesis de proteínas; actividades de fosfatasa alcalina y de alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa) también ayudan a distinguir entre causas prehepáticas, hepáticas y poshepática de ictericia.

RESUMEN

- El hem de las hemoproteínas como la hemoglobina y los citocromos es una porfirina que contiene hierro, que consta de cuatro anillos pirrol unidos por puentes metenilos.
- Un total de ocho sustituyentes metilo, vinilo y propionilo en los cuatro anillos pirrol del hem están dispuestos en una secuencia específica. El ion metálico (Fe^{2+} en la hemoglobina; Mg^{2+} en la clorofila) está enlazado a los cuatro átomos de nitrógeno de los anillos pirrol.
- La biosíntesis del anillo hem comprende ocho reacciones catalizadas por enzimas. Algunas de estas reacciones ocurren en las mitocondrias, y otras en el citosol.
- La síntesis de hem comienza con la condensación de succinil-CoA y glicina para formar δ-aminolevulinato (ALA). Esta reacción es catalizada por la ALA sintasa 1 (ALAS1), la enzima reguladora de la biosíntesis del hem.
- La síntesis de ALAS1 aumenta en respuesta a una concentración baja de hem disponible. Ciertos fármacos (p. ej., fenobarbital) desencadenan de manera indirecta síntesis aumentada de ALAS1 al promover la síntesis de citocromo P450, que agota el fondo común de hem. Una segunda ALA sintasa, ALAS2, no está regulada por la concentración de hem o por fármacos que promueven la síntesis de citocromo P450.
- Las anormalidades genéticas de siete de las ocho enzimas de la biosíntesis del hem dan por resultado porfirias hereditarias. Los eritrocitos y el hígado son los principales sitios de expresión de las porfirias. La fotosensibilidad y los problemas neurológicos son quejas comunes. La ingestión de ciertas toxinas (p. ej., plomo) puede causar porfirias adquiridas. Pueden detectarse cantidades aumentadas de porfirinas o sus precursores en la sangre y la orina, lo cual facilita el diagnóstico.
- El catabolismo del anillo hem, iniciado por la enzima hem oxigenasa mitocondrial, produce el tetrapirrol lineal, biliverdina. La reducción subsiguiente de biliverdina en el citosol forma bilirrubina.
- La bilirrubina se une a la albúmina para transporte desde los tejidos periféricos al hígado, donde es captada por los hepatocitos. El hierro del hem se libera y se vuelve a utilizar.
- La hidrosolubilidad de la bilirrubina aumenta por la adición de 2 moles de la porción glucuronosil altamente polar, derivada del UDP-glucuronato, por cada mol de bilirrubina. La unión de las porciones glucuronosil es catalizada por la bilirrubina UDP-glucuronosil transferasa, una de una familia grande de enzimas con especificidad de sustrato que difiere, que aumentan la polaridad de diversos fármacos y sus metabolitos, lo que facilita su excreción.
- Las mutaciones en el gen codificador dan lugar a actividad reducida o nula de bilirrubina UDP-glucuronosil transferasa. Las presentaciones clínicas que reflejan la gravedad de la(s) mutación(es) son el síndrome de Gilbert, y dos tipos de síndrome de Crigler-Najjar, enfermedades cuya gravedad depende de la magnitud de actividad enzimática restante.
- Después de la secreción de bilirrubina desde la bilis al intestino, enzimas bacterianas convierten la bilirrubina en urobilinógeno y urobilina, que se excretan en las heces y la orina.
- En la medición colorimétrica de bilirrubina se emplea el color que se forma cuando la bilirrubina reacciona con ácido sulfanílico diazotizado. Las valoraciones efectuadas en *ausencia* de metanol añadido miden la "bilirrubina directa" (esto es, glucurónido de bilirrubina). Las valoraciones efectuadas en *presencia* de metanol añadido miden la bilirrubina total. La diferencia entre la bilirrubina total y la bilirrubina directa, llamada "bilirrubina indirecta", es la bilirrubina no conjugada.
- La ictericia se produce por una concentración plasmática alta de bilirrubina. Las causas de ictericia pueden distinguirse como prehepáticas (p. ej., anemias hemolíticas), hepáticas (p. ej.,

hepatitis), o poshepáticas (p. ej., obstrucción del colédoco). Las mediciones de la bilirrubina plasmática total y no conjugada, del urobilinógeno y la bilirrubina urinarios, de la actividad de ciertas enzimas séricas, y el análisis de muestras de heces ayudan a distinguir entre las causas de ictericia.

REFERENCIAS

Bowman SE, Bren KL: The chemistry and biochemistry of heme c: functional bases for covalent attachment. Nat Prod Rep 2008;25:1118.

Blouin JM, Duchartre Y, Costet P, *et al*: Therapeutic potential of proteasome inhibitors in congenital erythropoietic porphyria. Proc Natl Acad Sci USA 2013;110:18238.

Deacon AC, Whatley SD, Elder GH: Porphyrins and disorders of porphyrin metabolism. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Ch. 32. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors). Elsevier Saunders, 2006.

Desnick RJ, Astrin KH: The porphyrias. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS *et al* (editors). Ch. 352. McGraw-Hill, 2008.

Kim DH, Jin YH: Intestinal bacterial beta-glucuronidase activity of patients with colon cancer. Arch Pharm Res 2001:24;564.

Leroyer A, Leleu B, Dehon B, *et al*: Influence of delta-aminolevulinic acid dehydratase gene polymorphism on selected lead exposure biomarkers in a cohort of ex-smelter workers. J Toxicol Environ Health A 2013;76:895.

Li T, Bonkovsky HL, Guo J-T: Structural analysis of heme proteins: implications for design and prediction. BMC Structural Biology 2011;11:13.

Sticova E, Jirsa M: New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications. World J Gastroenterol 2013;19:6398.

Unno M, Matsui T, Ikeda-Saito, M: Structure and catalytic mechanism of heme oxygenase. Nat Prod Rep 2007;24:553.

van de Steeg E, Stránecký V, Hartmannová H, *et al*: Complete OATP1B1 and OATP1B3 deficiency causes human Rotor syndrome by interrupting conjugated bilirubin reuptake into the liver. J Clin Invest 2012;122:519.

Watchko JF, Tiribelli C: Bilirubin-induced neurologic damage: mechanisms and management approaches. N Engl J Med 2013;369:2021

Wolkoff AW: The hyperbilirubinemias. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS *et al* (editors). Ch. 297. McGraw-Hill, 2008.

Yoshida T, Migita CT: Mechanism of heme degradation by heme oxygenase. J Inorg Biochem 2000;82:33.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

Preguntas de examen

Sección VI. Metabolismo de proteínas y aminoácidos

1. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. El Δ^1-pirrolina-5-carboxilato es un intermediario tanto en la biosíntesis como en el catabolismo de L-prolina.
   B. Los tejidos de ser humano pueden formar aminoácidos no esenciales en la dieta a partir de intermediarios anfibólicos, o de aminoácidos esenciales en la dieta.
   C. El tejido del hígado de humano puede formar serina a partir del intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato.
   D. La reacción catalizada por la fenilalanina hidroxilasa interconvierte fenilalanina y tirosina.
   E. El poder reductor de la tetrahidrobiopterina se deriva finalmente del NADPH.

2. Identifique el metabolito que NO sirve como un precursor de un aminoácido esencial en la dieta:
   A. α-Cetoglutarato
   B. 3-Fosfoglicerato
   C. Glutamato
   D. Aspartato
   E. Histamina

3. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La selenocisteína está presente en los sitios activos de ciertas enzimas de ser humano.
   B. La selenocisteína es insertada en proteínas mediante un proceso postraduccional.
   C. La transaminación de α-cetoácidos de la dieta puede reemplazar los aminoácidos esenciales en la dieta leucina, isoleucina y valina.
   D. La conversión de peptidil prolina en peptidil-4-hidroxiprolina se acompaña de la incorporación de oxígeno hacia succinato.
   E. La serina y la glicina son interconvertidas en una reacción única en la cual participan derivados del tetrahidrofolato.

4. Seleccione la respuesta CORRECTA:

   La primera reacción en la degradación de casi todos los aminoácidos de proteína comprende la participación de:
   A. NAD^+.
   B. Pirofosfato de tiamina (TPP).
   C. Fosfato de piridoxal.
   D. FAD.
   E. NAD^+ y TPP.

5. Identifique el aminoácido que es el principal contribuidor al transporte de nitrógeno destinado para excreción como urea:
   A. Alanina.
   B. Glutamina.
   C. Glicina.
   D. Lisina.
   E. Ornitina.

6. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. El síndrome de Angelman se asocia con una ubiquitina E3 ligasa defectuosa.
   B. Después de una comida rica en proteína, los tejidos esplácnicos liberan predominantemente aminoácidos de cadena ramificada, que son captados por el tejido muscular periférico.
   C. La tasa de gluconeogénesis hepática a partir de glutamina excede la de cualquier otro aminoácido.
   D. La conversión de un α-aminoácido en su α-cetoácido correspondiente, catalizada por L-α-amino oxidasa, se acompaña de la liberación de NH_4^+.
   E. Signos y síntomas similares o incluso idénticos pueden asociarse con diferentes mutaciones del gen que codifica para una enzima dada.

7. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Las secuencias de PEST establecen como objetivo algunas proteínas para degradación rápida.
   B. El ATP y la ubiquitina típicamente participan en la degradación de proteínas asociadas a membrana y otras proteínas que tienen vida media prolongada.
   C. Las moléculas de ubiquitina están unidas a proteínas blanco por medio de enlaces peptídicos no α.
   D. Los descubridores de la degradación de proteína mediada por ubiquitina recibieron un premio Nobel.
   E. La degradación de proteínas marcadas con ubiquitina tiene lugar en el proteasoma, una macromolécula de múltiples subunidades presente en todos los eucariontes.

8. Para los trastornos metabólicos del ciclo de la urea, ¿cuál afirmación es INCORRECTA?
   A. La intoxicación por amoníaco es más grave cuando el bloqueo metabólico en el ciclo de la urea ocurre antes de la reacción catalizada por la argininosuccinato sintasa.
   B. Los síntomas clínicos incluyen retraso mental y la evitación de alimentos ricos en proteína.
   C. Los signos clínicos pueden incluir acidosis.
   D. El aspartato proporciona el segundo nitrógeno del argininosuccinato.
   E. El manejo de la dieta se enfoca en una dieta baja en proteína, ingerida como comidas pequeñas frecuentes.

9. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Una función metabólica de la glutamina es secuestrar nitrógeno en una forma no tóxica.
   B. La glutamato deshidrogenasa hepática es inhibida alostéricamente por ATP, y activada por ADP.
   C. La urea se forma tanto a partir de amoníaco absorbido producido por bacterias entéricas, como a partir de amoníaco generado por la actividad metabólica tisular.
   D. La acción concertada de la glutamato deshidrogenasa y de la glutamato aminotransferasa puede denominarse transdesaminación.

E. El fumarato generado durante la biosíntesis de argininosuccinato finalmente forma oxaloacetato en reacciones en mitocondrias catalizadas sucesivamente por la fumarasa y la malato deshidrogenasa.

10. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. La treonina proporciona la porción tioetanol para la biosíntesis de coenzima A.
    B. La histamina surge por descarboxilación de histidina.
    C. La ornitina sirve como un precursor tanto de la espermina como de la espermidina.
    D. La serotonina y la melatonina son metabolitos del triptófano.
    E. La glicina, arginina y metionina, contribuyen, cada una, con átomos para la síntesis de creatina.

11. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. La creatinina excretada está en función de la masa muscular, y puede usarse para determinar si un paciente ha proporcionado un espécimen de orina de 24 horas completo.
    B. Muchos fármacos y catabolitos de fármaco se excretan en la orina como conjugados de glicina.
    C. El principal destino metabólico no proteínico de la metionina es la conversión en *S*-adenosilmetionina.
    D. La concentración de histamina en el hipotálamo muestra un ritmo circadiano.
    E. La descarboxilación de glutamina forma el neurotransmisor inhibidor GABA (γ-aminobutirato).

12. ¿Qué distingue las rutas mediante las cuales cada uno de los aminoácidos que siguen aparece en proteínas de humano?
    A. 5-hidroxilisina.
    B. γ-Carboxiglutamato.
    C. Selenocisteína.

13. ¿Qué ventaja evolutiva podría obtenerse por el hecho de que ciertos aminoácidos son esenciales *en la dieta* para humanos?

14. ¿Qué explicación puede ofrecer para el hecho de que no se han detectado defectos metabólicos que den por resultado falta completa de la actividad de glutamato deshidrogenasa?

15. ¿Cuál de los siguientes no es una hemoproteína?
    A. Mioglobina.
    B. Citocromo *c*.
    C. Catalasa.
    D. Citocromo P450.
    E. Albúmina.

16. Un varón de 30 años de edad acudió a la clínica con un antecedente de dolor abdominal intermitente y episodios de confusión y problemas psiquiátricos. Los análisis de laboratorio revelaron aumentos del δ-aminolevulinato y el porfobilinógeno urinarios. El análisis mutacional reveló una mutación en el gen que codifica para la uroporfirinógeno I sintasa (porfobilinógeno desaminasa). El diagnóstico probable fue:
    A. Porfiria intermitente aguda.
    B. Anemia sideroblástica ligada a X.
    C. Porfiria eritropoyética congénita.
    D. Porfiria cutánea tarda.
    E. Porfiria variegata.

17. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. La bilirrubina es un tetrapirrol cíclico.
    B. La bilirrubina unida a albúmina es transportada al hígado.
    C. La concentración alta de bilirrubina puede causar daño del cerebro de recién nacidos.
    D. La bilirrubina contiene grupos metilo y vinilo.
    E. La bilirrubina no contiene hierro.

18. Una mujer de 62 años de edad acudió a la clínica con ictericia intensa, que aumentó de manera progresiva en el transcurso de los tres meses precedentes. Refirió un antecedente de dolor de gran intensidad en la parte alta del abdomen, con irradiación hacia la espalda, y había perdido peso considerable. Había notado que sus heces estuvieron muy pálidas durante cierto tiempo. Los análisis de laboratorio revelaron una concentración muy alta de bilirrubina directa, y bilirrubina urinaria alta. La concentración plasmática de alanina aminotransferasa (ALT) sólo estuvo un poco alta, mientras que la concentración de fosfatasa alcalina estuvo notoriamente alta. La ultrasonografía abdominal no reveló evidencia de cálculos biliares. ¿Cuál de los siguientes es el diagnóstico más probable?
    A. Síndrome de Gilbert
    B. Anemia hemolítica
    C. Síndrome de Crigler-Najjar tipo I
    D. Carcinoma del páncreas
    E. Hepatitis infecciosa

19. En los laboratorios clínicos típicamente se usa ácido sulfanílico diazotizado para medir la bilirrubina sérica y sus derivados. ¿Cuál es la base física que permite al laboratorio reportar los resultados al médico en términos de estas dos formas de bilirrubina?

20. ¿Cuáles son las señales para que tenga lugar síntesis de hem?


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN VII

Estructura, función y replicación de macromoléculas informacionales

CAPÍTULO 32

Nucleótidos

Victor W. Rodwell, PhD

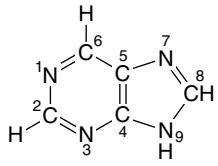
OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

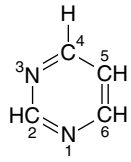
- Escribir fórmulas estructurales para representar los amino-tautómeros y oxo-tautómeros de una purina y de una pirimidina, y declarar cuál tautómero predomina en condiciones fisiológicas.
- Reproducir las fórmulas estructurales para los principales nucleótidos presentes en el DNA y en el RNA, y los nucleótidos menos comunes 5-metilcitocina, 5-hidroximetilcitocina, y pseudouridina (ψ).
- Representar la D-ribosa o 2-desoxi-D-ribosa enlazada como un conformador *sin* o *anti* de una purina, nombrar el enlace entre el azúcar y la base, e indicar cuál conformador predomina en casi todas las condiciones fisiológicas.
- Numerar los átomos C y N de un nucleótido pirimidina y de un nucleósido purina, incluso el empleo de un número con una prima para átomos de C de los azúcares.
- Comparar el potencial de transferencia de grupo fosforilo de cada grupo fosforilo de un nucleósido trifosfato.
- Esbozar las funciones fisiológicas de los fosfodiésteres cíclicos cAMP y cGMP.
- Comprender que los polinucleótidos son macromoléculas direccionales compuestas de mononucleótidos enlazados por enlaces 3′ → 5′-fosfodiéster.
- Familiarizarse con el hecho de que en las representaciones abreviadas de estructuras de polinucleótido como pTpGpT o TGCATCA, el extremo 5′ siempre se muestra a la izquierda y todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′.
- Para análogos sintéticos específicos de bases purina y pirimidina y sus derivados que han servido como fármacos anticáncer, indicar de qué maneras estos compuestos inhiben el metabolismo.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de servir como precursores de ácidos nucleicos, los nucleótidos purina y pirimidina participan en funciones metabólicas tan diversas como el metabolismo de energía, la síntesis de proteína, la regulación de la actividad enzimática, y la transducción de señal. Cuando se enlazan a vitaminas o derivados de vitaminas, los nucleótidos forman parte de muchas coenzimas. Como los principales donadores y receptores de grupos fosforilo en el metabolismo, los nucleósidos trifosfatos y difosfatos, como el ATP y ADP, son los principales elementos en las transducciones de energía que acompañan a las interconversiones metabólicas



Purina



Pirimidina

FIGURA 32-1 Purina y pirimidina. Los átomos están numerados de acuerdo con el sistema internacional.



FIGURA 32-2 Tautomerismo de los grupos funcionales oxo y amino de purinas y pirimidinas.

y la fosforilación oxidativa. Enlazados a azúcares o lípidos, los nucleósidos constituyen intermediarios biosintéticos clave. Los derivados del azúcar UDP-glucosa y UDP-galactosa participan en interconversiones de azúcar y en la biosíntesis de almidón y glucógeno. De modo similar, los derivados nucleósido-lípido, como el CDP-acilglicerol, son intermediarios en la biosíntesis de lípidos. Las funciones de los nucleótidos en la regulación metabólica incluyen la fosforilación de enzimas metabólicas clave dependientes de ATP, regulación alostérica de enzimas por ATP, ADP, AMP y CTP, y control por el ADP del índice de fosforilación oxidativa. Los nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP sirven como los segundos mensajeros en eventos regulados por hormonas, y el GTP y GDP desempeñan funciones clave en la cascada de eventos que caracterizan a las vías de transducción de señal. Además de las funciones que tienen los nucleótidos en el metabolismo, tienen aplicaciones médicas que incluyen el uso de análogos de purina y pirimidina sintéticos que contienen halógenos, tioles, o átomos de nitrógeno adicionales en la quimioterapia de cáncer y síndrome de inmunodeficiencia adquirida, y como supresores de la respuesta inmunitaria durante trasplante de órganos.

PROPIEDADES QUÍMICAS DE LAS PURINAS, LAS PIRIMIDINAS, LOS NUCLEÓSIDOS Y LOS NUCLEÓTIDOS

Las purinas y pirimidinas son compuestos heterocíclicos

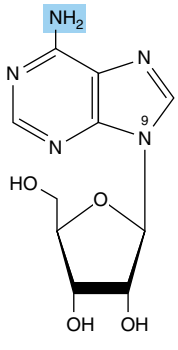
Las purinas y pirimidinas son **heterociclos** que contienen nitrógeno, estructuras cíclicas que contienen, además de carbono, otros (hetero) átomos, como nitrógeno. Observe que la molécula de pirimidina de menor tamaño tiene el nombre *más largo,* y que la molécula de purina de mayor tamaño tiene el nombre *más corto,* y que sus anillos de seis átomos están numerados en direcciones opuestas (**figura 32-1**). Las purinas o pirimidinas con un grupo —NH_2 son bases débiles (valores de p*K*a de 3 a 4), aunque el protón presente a pH bajo está asociado, no como podría esperarse con el grupo amino exocíclico, sino con un nitrógeno de anillo, típicamente N1 de adenina, N7 de guanina y N3 de citocina. La naturaleza planar de las purinas y las pirimidinas facilita su asociación estrecha, o "apilamiento", que estabiliza el DNA bicatenario (capítulo 34). Los grupos oxo y amino de purinas y pirimidinas muestran **tautomerismo** ceto-enol y amina-imina (**figura 32-2**), aunque las condiciones fisiológicas favorecen fuertemente las formas amino y oxo.

Los nucleósidos son *N*-glucósidos

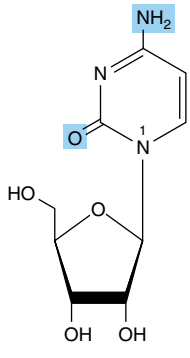
Los nucleó**sidos** son derivados de purinas y pirimidinas que tienen un azúcar enlazado a un nitrógeno de anillo de una purina o pirimidina. Los números con una prima (p. ej., 2′ o 3′) distinguen entre los átomos del azúcar y los del heterociclo. El azúcar en los **ribonucleósidos** es la D-ribosa, y en los **desoxirribonucleósidos** es la 2-desoxi-D-ribosa. Ambos azúcares están unidos al heterociclo por medio de un enlace β-***N*-glucosídico,** casi siempre al N-1 de una pirimidina o al N-9 de una purina (**figura 32-3**).

Los nucleótidos son nucleósidos fosforilados

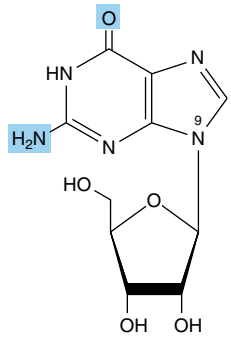
Los mononucleó**tidos** son nucleó**sidos** con un grupo fosforilo esterificado a un grupo hidroxilo del azúcar. Los nucleótidos 3′ y 5′ son nucleósidos con un grupo fosforilo en el grupo 3′- o 5′-hidroxilo del azúcar, respectivamente. Dado que casi todos los nucleótidos son 5′-, el prefijo "5′-" por lo general se omite cuando se les cita. Así, el UMP y el dAMP representan nucleótidos con un grupo fosforilo en el C-5 de la pentosa. Los grupos fosforilo adicionales, ligados por **enlaces anhídrido de ácido** al grupo fosforilo de un mononucleótido, forman **nucleósido difosfatos** y **trifosfatos** (**figura 32-4**).



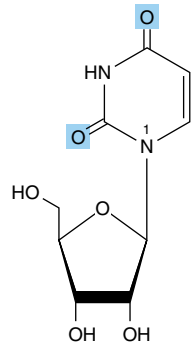
Adenosina



Citidina



Guanosina



Uridina

FIGURA 32-3 Ribonucleósidos, dibujados como los conformadores *sin*.

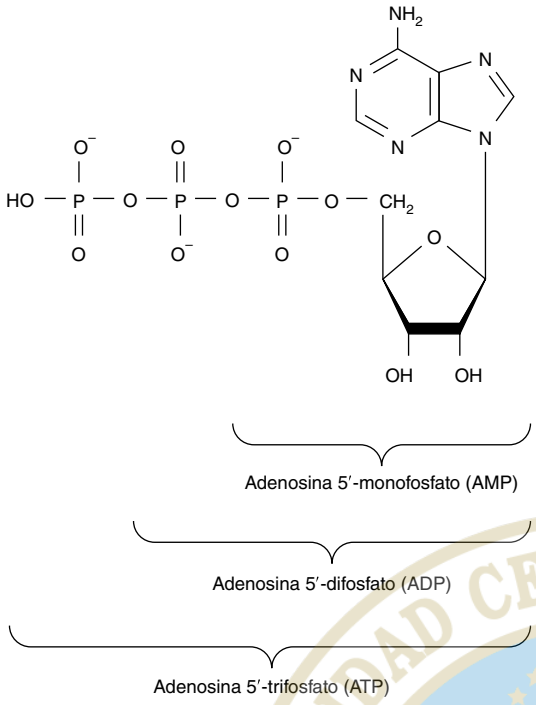


FIGURA 32-4 **ATP, su difosfato y su monofosfato.**

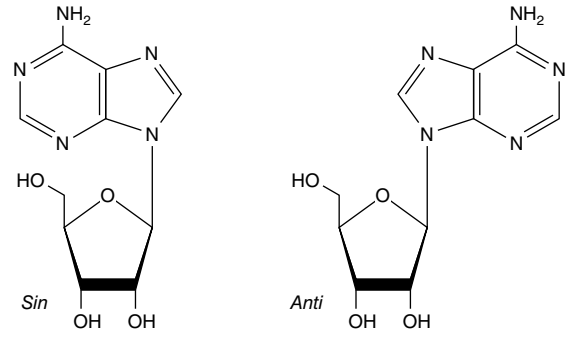


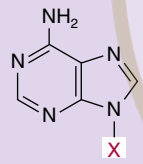
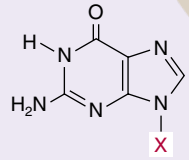
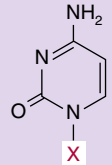
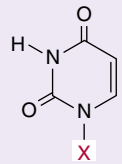
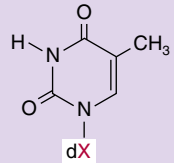
FIGURA 32-5 **Los conformadores *sin* y *anti* de la adenosina difieren respecto a la orientación alrededor del enlace *N*-glucosídico.**

Los *N*-glucósidos heterocíclicos existen como conformadores *sin* y *anti*

El obstáculo estérico por el heterociclo dicta que no hay libertad de rotación alrededor del enlace β-*N*-glucosídico de nucleósidos o nucleótidos. En consecuencia, ambos existen como **conformadores *sin* o *anti*** no interconvertibles (**figura 32-5**). Aunque ambos, *sin* y *anti*, se encuentran en la Naturaleza, predominan los conformadores *anti*.

El **cuadro 32-1** lista las principales purinas y pirimidinas, y sus derivados nucleósido y nucleótido. Se usan abreviaturas

CUADRO 32-1 **Bases de purina, ribonucleósidos y ribonucleótidos**

Purina o pirimidina	X = H	X = ribosa	X = ribosa fosfato
	Adenina	Adenosina	Adenosina monofosfato (AMP)
	Guanina	Guanosina	Guanosina monofosfato (GMP)
	Citocina	Citidina	Citidina monofosfato (CMP)
	Uracilo	Uridina	Uridina monofosfato (UMP)
	Timina	Timidina	Timidina monofosfato (TMP)

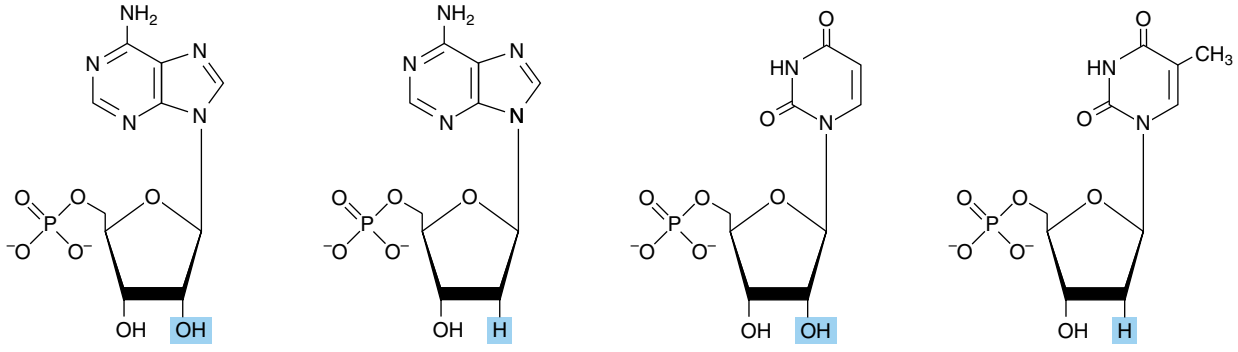


FIGURA 32-6 **Estructuras del AMP, dAMP, UMP y TMP.**

de una sola letra para identificar a la adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) y uracilo (U), ya sea libre o presente en nucleósidos o nucleótidos. El prefijo "d" (desoxi) indica que el azúcar es 2′-desoxi-D-ribosa (p. ej., en el dATP) (**figura 32-6**).

La modificación de polinucleótidos puede generar estructuras adicionales

Pequeñas cantidades de purinas y pirimidinas adicionales se encuentran en el DNA y en los RNA. Los ejemplos incluyen 5-metilcitocina del DNA bacteriano y de seres humanos, 5-hidroximetilcitocina de ácidos nucleicos bacterianos y virales, y adenina y guanina mono- y di-*N*-metiladas de RNA mensajeros de mamífero (**figura 32-7**) que funcionan en el reconocimiento de oligonucleótido y en la regulación de la vida media de los RNA. Las bases heterocíclicas libres incluyen hipoxantina, xantina y ácido úrico (**figura 32-8**), intermediarios en el catabolismo de la adenina y la guanina (capítulo 33). Los heterociclos metilados de vegetales incluyen los derivados de xantina: cafeína del café, teofilina del té, y teobromina del cacao (**figura 32-9**).

Los nucleótidos son ácidos polifuncionales

Los grupos fosforilo primario y secundario de nucleósidos tienen valores de p*K*a de alrededor de 1.0 y 6.2, respectivamente. Por consiguiente, los nucleótidos portan carga negativa importante a pH fisiológico. Los valores de p*K*a en los grupos fosforilo secundarios son tales que pueden servir como donadores de protón y aceptores de protón a valores de pH de aproximadamente una o más unidades por arriba de la neutralidad o por debajo de la misma.

Los nucleótidos absorben luz ultravioleta

Los dobles enlaces conjugados de derivados de purina y pirimidina absorben luz ultravioleta. Si bien los espectros son dependientes del pH, a pH de 7.0 todos los nucleótidos comunes absorben luz a una longitud de onda cercana a 260 nm. De este modo, la concentración de nucleótidos y ácidos nucleicos suele expresarse en términos de "absorbancia a 260 nm". El efecto mutagénico de la luz ultravioleta se debe a su absorción por nucleótidos en el DNA, que da lugar a modificaciones químicas (capítulo 35).

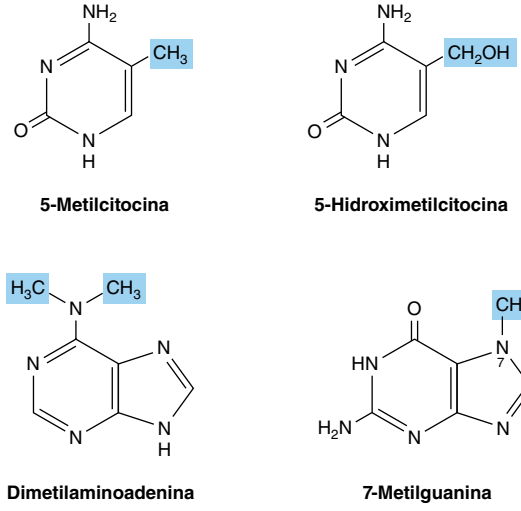


FIGURA 32-7 **Cuatro pirimidinas y purinas poco comunes pero naturales.**

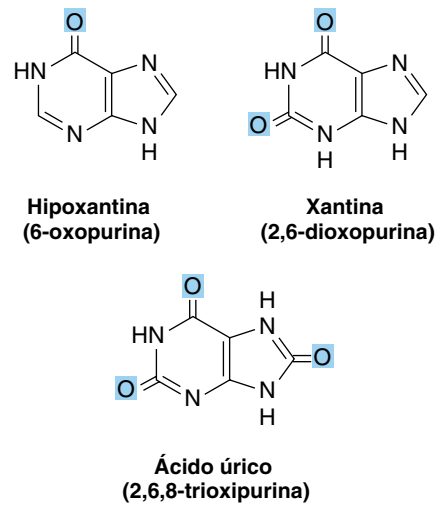


FIGURA 32-8 **Estructuras de la hipoxantina, xantina y ácido úrico, dibujadas como los tautómeros oxo.**

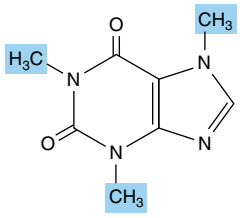


FIGURA 32-9 **Cafeína, una trimetilxantina.** Las dimetilxantinas teobromina y teofilina son similares, pero carecen del grupo metilo en *N*-1 y en *N*-7, respectivamente.

Los nucleótidos desempeñan diversas funciones fisiológicas

Además de sus funciones como precursores de ácidos nucleicos, ATP, GTP, UTP, CTP y sus derivados, cada uno desempeña funciones fisiológicas singulares que se comentan en otros capítulos. Algunos ejemplos seleccionados incluyen la función del ATP como el principal transductor biológico de energía libre, y el segundo mensajero cAMP (**figura 32-10**). Las cifras intracelulares medias de ATP, el nucleótido libre más abundante en células de mamífero, son de aproximadamente 1 mmol/L. Puesto que se requiere poco cAMP, la concentración intracelular de cAMP (alrededor de 1 nmol/L) es seis órdenes de magnitud por debajo de la del ATP. Otros ejemplos son la adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato (**figura 32-11**), el donador de sulfato para proteoglucanos sulfatados (capítulo 50) y para conjugados sulfato de fármacos, y el donador de grupo metilo *S*-adenosilmetionina (**figura 32-12**). El GTP sirve como un regulador alostérico y como una fuente de energía para la síntesis de proteína, y el cGMP (figura 32-10) sirve como un segundo mensajero en respuesta al óxido nítrico (NO) durante la relajación del músculo liso (capítulo 51).

Los derivados UDP-azúcar participan en epimerizaciones de azúcar y en la biosíntesis de glucógeno (capítulo 18), disacáridos glucosilo, y los oligosacáridos de glucoproteínas y proteoglucanos (capítulos 46 y 50). El ácido UDP-glucurónico forma los conjugados glucurónido urinarios de la bilirrubina (capítulo 31) y de muchos medicamentos, incluso el ácido acetilsalicílico (aspirina). El CTP participa en la biosíntesis de fosfoglicéridos, esfingomielina, y otras esfingosinas sustituidas (capítulo 24). Finalmente, muchas coenzimas incorporan nucleótidos, así como estructuras similares a nucleótidos purina y pirimidina (**cuadro 32-2**).

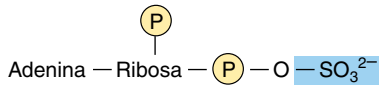


FIGURA 32-11 **Adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato.**

Los nucleósido trifosfatos tienen potencial alto de transferencia de grupo

Los nucleótido trifosfatos tienen dos enlaces anhídrido y un enlace éster. A diferencia de los ésteres, los anhídridos ácidos tienen un potencial alto de transferencia de grupo. El $\Delta G^{0\prime}$ para la hidrólisis de cada uno de los dos grupos fosforilo terminales (β y γ) de un nucleósido trifosfato es de alrededor de -7 kcal/mol (-30 kJ/mol). Este potencial alto de transferencia de grupo no sólo permite que los nucleósido trifosfatos purina y pirimidina funcionen como reactivos de transferencia de grupo, más comúnmente del grupo γ-fosforilo, sino también en ocasiones de transferencia de una porción nucleótido monofosfato con una liberación acompañante de PP_i. La división de un enlace anhídrido ácido típicamente está acoplada con un proceso altamente endergónico, como la síntesis de enlace covalente, por ejemplo, la polimerización de nucleósido trifosfatos para formar un ácido nucleico (capítulo 34).

ANÁLOGOS DE NUCLEÓTIDO SINTÉTICOS SE USAN EN QUIMIOTERAPIA

Análogos sintéticos de purinas, pirimidinas, nucleósidos y nucleótidos modificados en el anillo heterocíclico o en la porción azúcar,

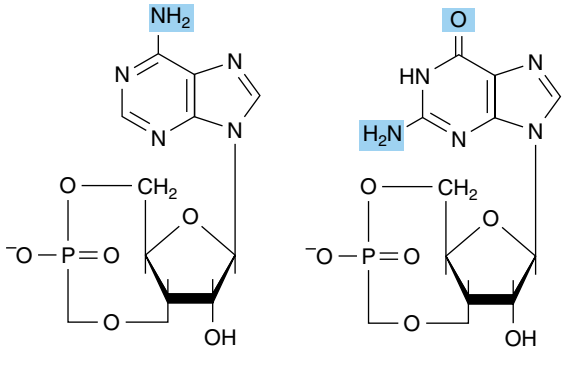


FIGURA 32-10 **cAMP, AMP 3′,5′ cíclico, y cGMP, GMP 3′,5′ cíclico.**

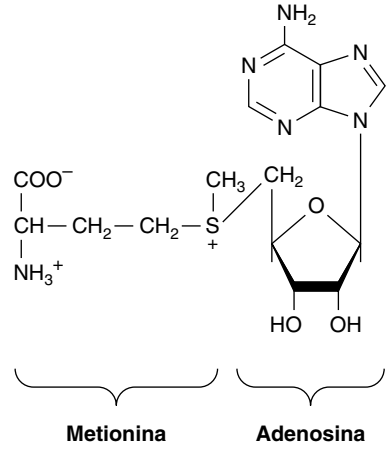
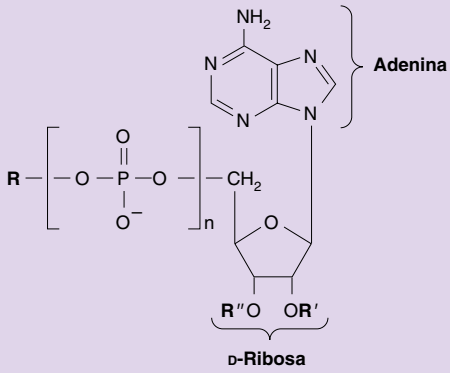


FIGURA 32-12 ***S*-Adenosilmetionina.**

CUADRO 32-2 Muchas coenzimas y compuestos relacionados son derivados del adenosina monofosfato



Coenzima	R	R′	R″	n
Metionina activa	Metionina[a]	H	H	0
Aminoácido adenilatos	Aminoácido	H	H	1
Sulfato activo	SO_3^{2-}	H	PO_3^{2-}	1
AMP 3′,5′-cíclico		H	PO_3^{2-}	1
NAD[b]	Nicotinamida	H	H	2
NADP[b]	Nicotinamida	PO_3^{2-}	H	2
FAD	Riboflavina	H	H	2
Coenzima A	Pantotenato	H	PO_3^{2-}	2

[a] Reemplaza al grupo fosforilo.
[b] R es un derivado de la vitamina B.

tienen muchas aplicaciones en medicina clínica. Sus efectos tóxicos reflejan inhibición de enzimas esenciales para la síntesis de ácido nucleico o su incorporación hacia ácidos nucleicos con alteración resultante de la formación de pares de bases. Los oncólogos emplean 5-fluorouracilo o 5-yodouracilo, 3-desoxiuridina, 6-tioguanina y 6-mercaptopurina, 5 o 6-azauridina, 5 o 6-azacitidina, y 8-azaguanina (**figura 32-13**), que se incorporan hacia el DNA antes de la división celular. El análogo de purina alopurinol, usado en el tratamiento de hiperuricemia y gota, inhibe la biosíntesis de purina y la actividad de la xantina oxidasa. La citarabina se usa en la quimioterapia de cáncer, y la azatioprina, que se catabolica hacia 6-mercaptopurina, se emplea durante trasplante de órgano para suprimir el rechazo inmunitario (**figura 32-14**).

Los análogos de nucleósido trifosfato no hidrolizables sirven como instrumentos de investigación

Los análogos sintéticos, no hidrolizables, de nucleósido trifosfatos (**figura 32-15**) permiten a los investigadores distinguir entre los efectos de nucleótidos debidos a la transferencia de fosforilo y los efectos mediados por la ocupación de sitios de unión a nucleótido alostéricos sobre enzimas reguladas (capítulo 9).

EL DNA Y RNA SON POLINUCLEÓTIDOS

El grupo 5′-fosforilo de un mononucleótido puede esterificar un segundo grupo hidroxilo, lo que forma un **fosfodiéster**. Con mayor frecuencia, este segundo grupo hidroxilo es el 3′-OH de

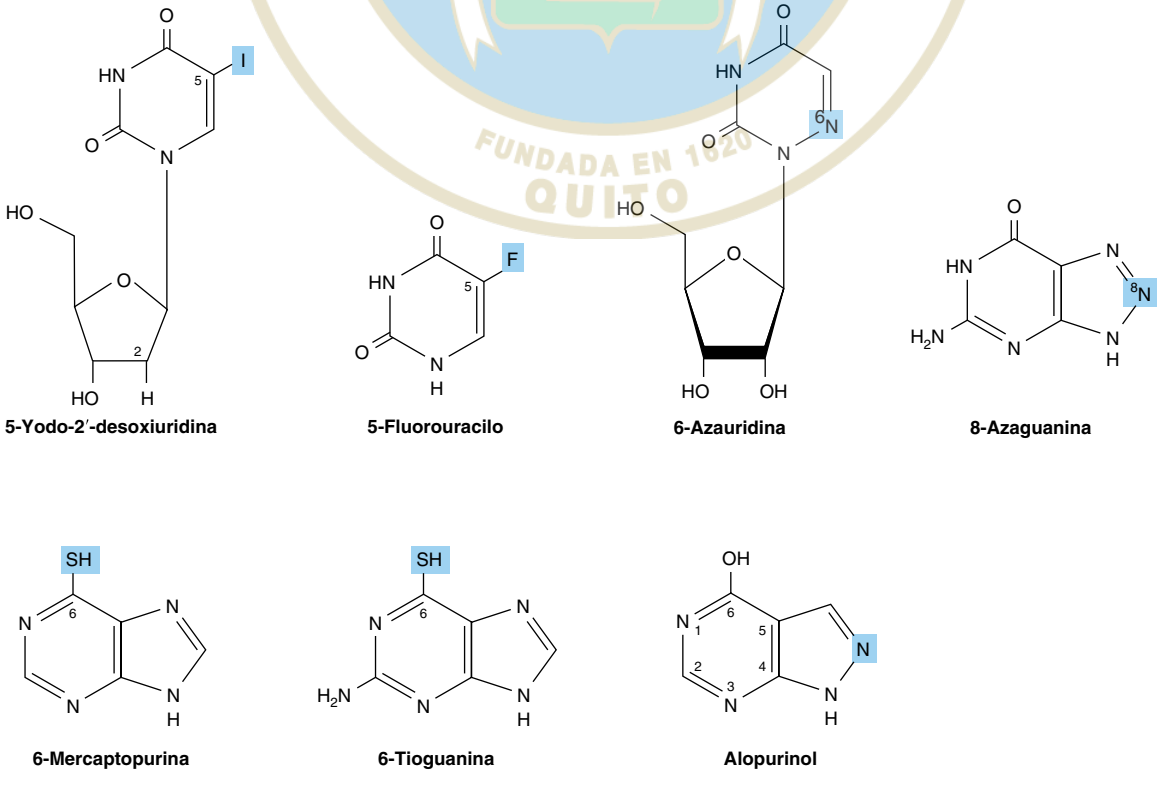
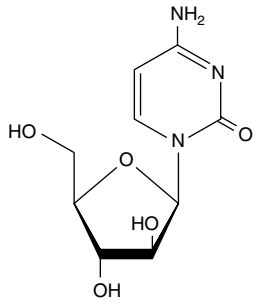
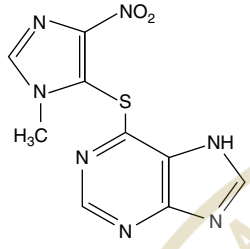


FIGURA 32-13 Análogos de pirimidina y purina sintéticos seleccionados.



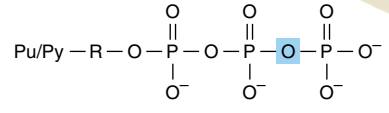
Citarabina



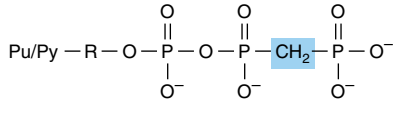
Azatioprina

FIGURA 32-14 **Arabinosilcitocina (citarabina) y azatioprina.**

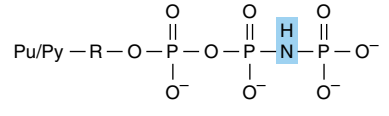
la pentosa de un segundo nucleótido. Esto forma un **dinucleótido** en el cual las porciones pentosa están enlazadas mediante un enlace 3′,5′-fosfodiéster para formar el "esqueleto" del RNA y el DNA. La formación de un dinucleótido puede representarse como la eliminación de agua entre dos mononucleótidos. Sin embargo, la formación biológica de dinucleótidos no ocurre de esta manera porque la reacción inversa, la hidrólisis del enlace fosfodiéster, se favorece fuertemente desde el punto de vista termodinámico. Sin embargo, a pesar de una ΔG en extremo favorable, en ausencia de catálisis por **fosfodiesterasas**, la hidrólisis de los enlaces fosfodiéster del DNA únicamente sucede al cabo de periodos prolongados. Por consiguiente, el DNA persiste durante



Nucleósido trifosfato madre



Derivado β,γ-metileno



Derivado β,γ-imino

FIGURA 32-15 **Derivados sintéticos de nucleósido trifosfatos incapaces de pasar por liberación hidrolítica del grupo fosforilo terminal.** (Pu/Py, una base purina o pirimidina; R, ribosa o desoxirribosa). Se muestran el nucleósido trifosfato madre (hidrolizable) **(arriba)** y los derivados β-metileno **(centro)** y γ-imino **(abajo)** no hidrolizables.

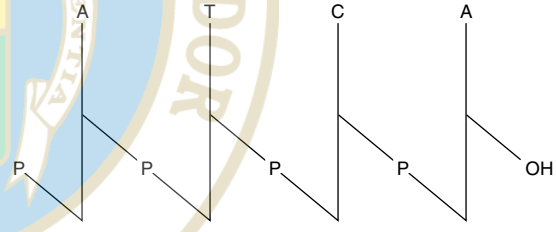
lapsos considerables, y se ha detectado incluso en fósiles. Los RNA son mucho menos estables que el DNA porque el grupo 2′-hidroxilo del RNA (que no se encuentra en el DNA) funciona como un nucleófilo en el transcurso de la hidrólisis del enlace 3′,5′-fosfodiéster.

La modificación postraduccional de **polinucleótidos** preformados puede generar estructuras adicionales como **pseudouridina**, un nucleósido en el cual una D-ribosa está enlazada a C-5 del uracilo por medio de un enlace carbono-carbono, en lugar del enlace β-*N*-glucosídico habitual. El nucleótido ácido pseudouridílico (ψ) surge por reordenamiento de un UMP de un tRNA preformado. De modo similar, la metilación por *S*-adenosilmetionina de un UMP de tRNA preformado forma TMP (timidina monofosfato), que contiene ribosa más que desoxirribosa.

Los polinucleótidos son macromoléculas direccionales

Los enlaces fosfodiéster unen los carbonos 3′ y 5′ de monómeros adyacentes Cada extremo de un polímero de nucleótido es distinto; por tanto, se hace referencia al "extremo 5′" o el "extremo 3′" de un polinucleótido; el extremo 5′ es aquel con un grupo 5′-hidroxilo libre o fosforilado.

La secuencia de bases o **estructura primaria** de un polinucleótido puede representarse como se muestra a continuación. El enlace de fosfodiéster se representa por P o p, las bases por medio de una letra única, y las pentosas mediante una línea vertical.



Cuando todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′, es posible una notación más compacta:

pGpGpApTpCpA

Esta representación indica que el 5′-hidroxilo —no así el 3′-hidroxilo— está fosforilado. La representación más compacta, por ejemplo GGATC, sólo muestra la secuencia de bases con el extremo 5′ a la izquierda y el extremo 3′ a la derecha, por convención. Se supone que los grupos fosforilo están presentes, pero no se muestran.

RESUMEN

- En condiciones fisiológicas, predominan los tautómeros amino y oxo de las purinas, pirimidinas y sus derivados.
- Los ácidos nucleicos contienen, además de A, G, C, T y U, trazas de 5-metilcitocina, 5-hidroximetilcitocina, pseudouridina (ψ), y heterociclos *N*-metilados.
- Casi todos los nucleósidos contienen D-ribosa o 2-desoxi-D-ribosa enlazada a *N*-1 de una pirimidina o a *N*-9 de una purina por medio de un enlace β-glucosídico cuyos conformadores *sin* predominan.

- Un número con una prima indica el hidroxilo al cual el grupo fosforil de los azúcares de mononucleótidos se halla adherido (p. ej., 3′-GMP, 5′-dCMP). Grupos fosforilo adicionales enlazados al primero mediante enlaces anhídrido de ácido forman nucleósido difosfatos y trifosfatos.
- Los nucleósido trifosfatos tienen alto potencial de transferencia de grupo, y participan en síntesis de enlaces covalentes. Los fosfodiésteres cíclicos cAMP y cGMP funcionan como segundos mensajeros intracelulares.
- Los mononucleótidos unidos por enlaces 3′ → 5′-fosfodiéster forman polinucleótidos, macromoléculas direccionales con extremos 3′ y 5′ distintos. Cuando se representan como pTpGpT o TGCATCA, el extremo 5′ está a la izquierda, y todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′.
- Los análogos sintéticos de bases purina y pirimidina y sus derivados sirven como fármacos anticáncer, ya sea al inhibir una enzima de la biosíntesis de nucleótido o al incorporarse en el DNA o el RNA.

REFERENCIAS

Adams RLP, Knowler JT, Leader DP: *The Biochemistry of the Nucleic Acids,* 11th ed. Chapman & Hall, 1992.

Blackburn GM, Gait MJ: *Nucleic Acids in Chemistry & Biology.* IRL Press, 1990.

Pacher P, Nivorozhkin A, Szabo C: Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. Pharmacol Rev 2006;58:87.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 33

Metabolismo de nucleótidos purina y pirimidina

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Comparar y contrastar las funciones de ácidos nucleicos en la dieta, y de la biosíntesis de *novo*, en la producción de purinas y pirimidinas destinadas para la biosíntesis de polinucleótido.
- Explicar por qué los fármacos antifolato y análogos del aminoácido glutamina inhiben la biosíntesis de purina.
- Esbozar la secuencia de reacciones que convierten el IMP, primero en AMP y GMP, y después en sus nucleósido trifosfatos correspondientes.
- Describir la formación de desoxirribonucleótidos (dNTP) a partir de ribonucleótidos.
- Indicar la función reguladora del PRPP en la biosíntesis de purina hepática, y la reacción específica de la biosíntesis de purina hepática que es inhibida por retroacción por AMP y por GMP.
- Manifestar la importancia del control coordinado de la biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina.
- Identificar reacciones que son inhibidas por fármacos anticáncer.
- Escribir la estructura del producto terminal del catabolismo de la purina. Comentar su solubilidad e indicar su participación en la gota, el síndrome de Lesch-Nyhan, y la enfermedad de Von Gierke.
- Identificar reacciones cuyo deterioro lleva a signos y síntomas patológicos modificados.
- Indicar por qué hay pocos trastornos del catabolismo de la purina importantes en clínica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Aun si una persona tiene una dieta con alto contenido de nucleoproteínas, las purinas y pirimidinas de la dieta no se incorporan de modo directo hacia los ácidos nucleicos de tejidos. Los humanos sintetizan los ácidos nucleicos, ATP, NAD^+, coenzima A, etc., a partir de intermediarios anfibólicos. Sin embargo, los análogos de purina o pirimidina *inyectados,* entre ellos fármacos anticáncer potenciales, pueden incorporarse hacia el DNA. La biosíntesis de purina y pirimidina ribonucleótido trifosfatos (NTP) y dNTP son eventos regulados con exactitud. Los mecanismos de retroacción coordinados aseguran su producción en cantidades apropiadas, y en momentos que se ajustan a demanda fisiológica variable (p. ej., división celular). Las enfermedades de seres humanos que incluyen anormalidades del metabolismo de la purina son gota, síndrome de Lesch-Nyhan, deficiencia de adenosina desaminasa, y deficiencia de nucleósido purina fosforilasa. Las enfermedades de la biosíntesis de las pirimidinas son más raras, pero comprenden acidurias oróticas. A diferencia de la baja solubilidad del ácido úrico formado por catabolismo de las purinas, los productos terminales del catabolismo de pirimidina (dióxido de carbono, amoníaco, β-alanina y γ-aminoisobutirato) son muy hidrosolubles. Un trastorno genético del catabolismo de la pirimidina es la aciduria β-hidroxibutírica, debida a deficiencia total o parcial de la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa. Este trastorno del catabolismo de pirimidina, también conocido como uraciluria-timinuria combinada, también es un trastorno de la biosíntesis de β-aminoácidos, dado que la formación de β-alanina y β-aminoisobutirato está alterada. Una forma no genética puede desencadenarse por la administración del medicamento anticáncer 5-fluorouracilo a pacientes que tienen concentraciones bajas de dihidropirimidina deshidrogenasa.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FUNDADA EN 1620
QUITO

LAS PURINAS Y PIRIMIDINAS SON NO ESENCIALES EN LA DIETA

Los tejidos de humano normales pueden sintetizar purinas y pirimidinas a partir de intermediarios anfibólicos, en cantidades y en momentos apropiados para satisfacer demanda fisiológica variable; por consiguiente, los ácidos nucleicos y los nucleótidos ingeridos son no esenciales en la dieta. Después de su degradación en el tracto intestinal, los mononucleótidos resultantes pueden ser absorbidos o convertidos en bases purina y pirimidina. A continuación, las bases purina son oxidadas hacia ácido úrico, que se puede absorber, y excretar en la orina. Si bien poca o ninguna purina o pirimidina de la dieta se incorpora hacia ácidos nucleicos en los tejidos, los compuestos inyectados se incorporan. Así, la incorporación de [^{3}H] timidina inyectada hacia DNA recién sintetizado puede usarse para medir la tasa de síntesis de DNA.

BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PURINA

Con la excepción de protozoarios parásitos, todas las formas de vida sintetizan nucleótidos purina y pirimidina. La síntesis a partir de intermediarios anfibólicos procede a índices controlados apropiados para todas las funciones celulares. Con el fin de lograr homeostasis, mecanismos intracelulares detectan y regulan el tamaño del fondo común de nucleótido trifosfatos (NTP), que aumenta durante el crecimiento, o la regeneración de tejido, cuando las células se están dividiendo con rapidez.

Los nucleótidos purina y pirimidina se sintetizan *in vivo* a índices congruentes con la necesidad fisiológica. En las investigaciones tempranas de biosíntesis de nucleótido se emplearon primero aves, y más tarde *Escherichia coli*. Precursores isotópicos de ácido úrico suministrados como alimento a palomas establecieron la fuente de cada átomo de una purina (**figura 33-1**) e iniciaron el estudio de los intermediarios de la biosíntesis de purina. Tejidos de aves sirvieron como una fuente de genes clonados que codifican para enzimas de la biosíntesis de purina y las proteínas reguladoras que controlan el índice de biosíntesis de purina.

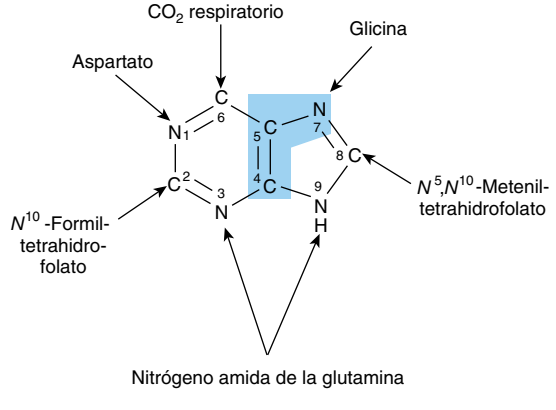


FIGURA 33-1 Fuentes de los átomos de nitrógeno y carbono del anillo de purina. Los átomos 4, 5 y 7 (resaltados en azul) se derivan de la glicina.

Los tres procesos que contribuyen a la biosíntesis de nucleótido purina son, en orden de importancia decreciente:

1. Síntesis a partir de intermediarios anfibólicos (síntesis *de novo*).
2. Fosforribosilación de purinas.
3. Fosforilación de nucleósidos purina.

LA INOSINA MONOFOSFATO (IMP) SE SINTETIZA A PARTIR DE INTERMEDIARIOS ANFIBÓLICOS

La **figura 33-2** ilustra los intermediarios y las 11 reacciones catalizadas por enzima que convierten a la α-D-ribosa 5-fosfato en inosina monofosfato (IMP). Además de ser el primer intermediario formado en la vía *de novo* para la biosíntesis de purina, el 5-fosforribosil 5-pirofosfato (PRPP, estructura II, figura 33-2) es un intermediario en la biosíntesis de nucleótidos pirimidina, NAD^+ y $NADP^+$. El montaje por pasos del anillo de purina de nueve miembros tiene lugar sobre PRPP como un andamio.

Después de la síntesis de IMP, ramas separadas llevan a AMP y GMP (**figura 33-3**). La transferencia subsiguiente de fosforilo desde ATP convierte el AMP y el GMP en ADP y GDP, respectivamente. La conversión de GDP en GTP incluye una segunda transferencia de fosforilo desde el ATP, mientras que la conversión de ADP en ATP se logra principalmente mediante fosforilación oxidativa (capítulo 13).

Catalíticos multifuncionales participan en la biosíntesis de nucleótido purina

En procariotas, un polipéptido diferente cataliza cada reacción de la figura 33-2. En contraste, en eucariotas las enzimas son polipéptidos con múltiples actividades catalíticas, cuyos sitios catalíticos adyacentes facilitan la canalización de intermediarios entre sitios. Tres enzimas multifuncionales catalizan las reacciones ③, ④ y ⑥; las reacciones ⑦ y ⑧, y las reacciones ⑩ y ⑪, de la figura 33-2.

Fármacos antifolato y análogos de glutamina bloquean la biosíntesis de nucleótido purina

Derivados del tetrahidrofolato contribuyen con los carbonos añadidos en las reacciones ④ y ⑩ de la figura 33-2. Los estados de deficiencia de purina, aunque son raros en seres humanos, por lo general reflejan una deficiencia de ácido fólico. En la quimioterapia de cáncer se han usado compuestos que inhiben la formación de tetrahidrofolatos y que, por ende, bloquean la síntesis de purina. Los compuestos inhibidores y las reacciones que inhiben comprenden **azaserina** (reacción ⑤, figura 33-2), **diazanorleucina** (reacción ②, figura 33-2), **6-mercaptopurina** (reacciones ⑬ y ⑭, figura 33-3), y ácido **micofenólico** (reacción ⑭, figura 33-3).

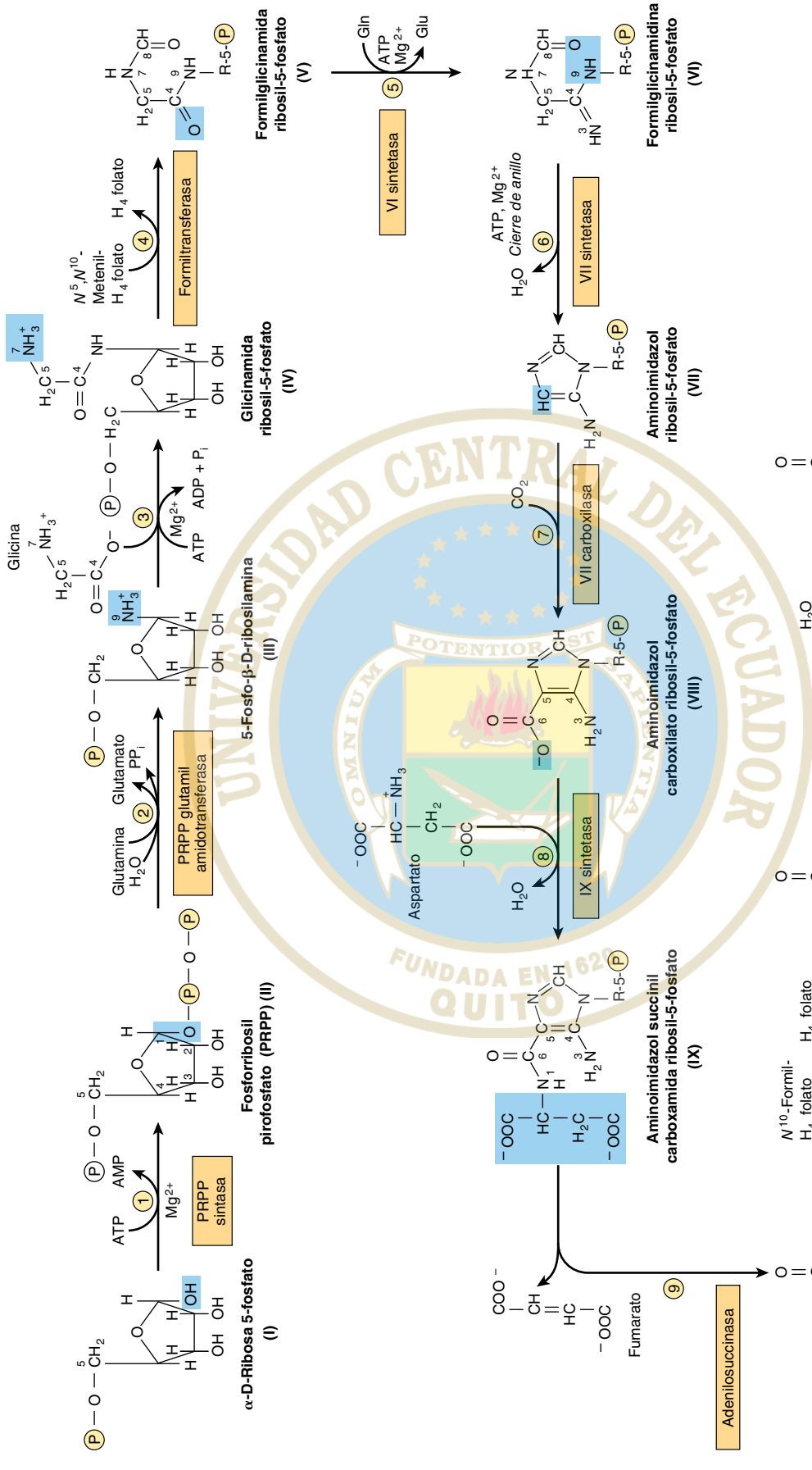


FIGURA 33-2 **Biosíntesis de purina a partir de la ribosa 5-fosfato y ATP.** Considere las explicaciones en el texto. (Ⓟ, PO_3^{2-} o PO_2^-).

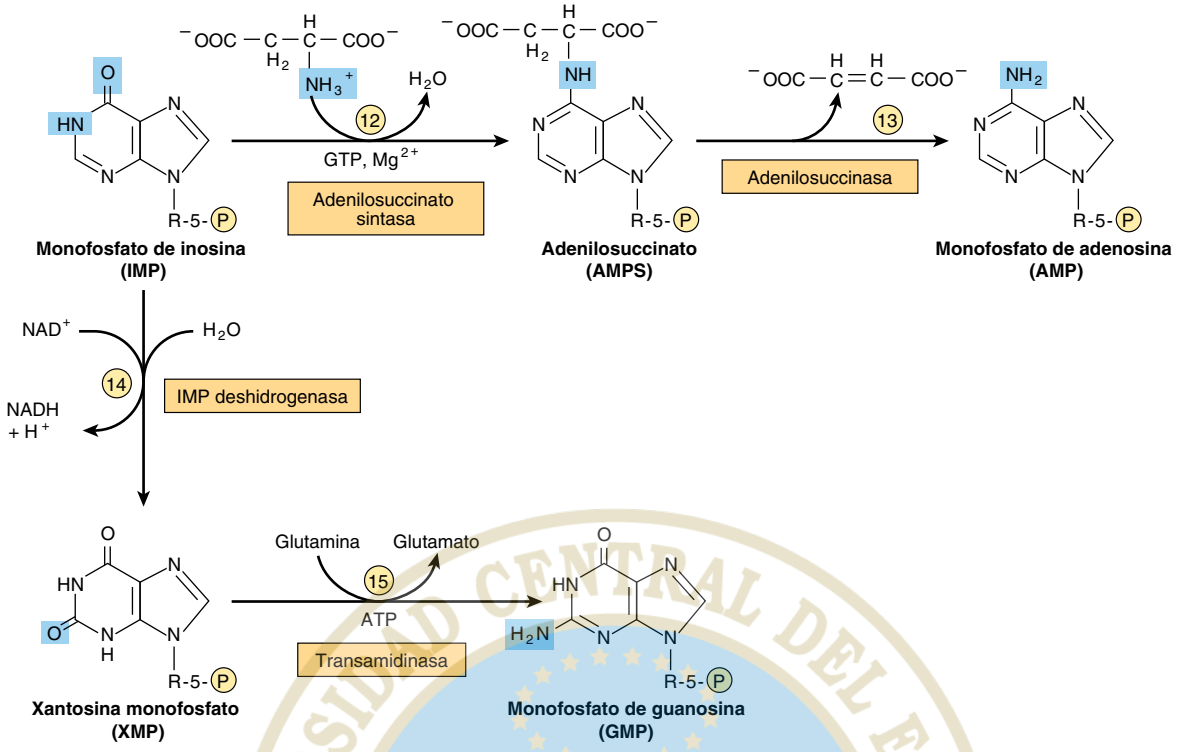


FIGURA 33-3 **Conversión de IMP en AMP y GMP.**

LAS "REACCIONES DE RECUPERACIÓN" CONVIERTEN PURINAS Y SUS NUCLEÓSIDOS EN MONONUCLEÓTIDOS

La conversión de purinas, sus ribonucleó**sidos**, y sus desoxirribonucleó**sidos** en mononucleó**tidos** incluye "reacciones de recuperación" que requieren mucha menos energía que la síntesis *de novo*. El mecanismo más importante comprende fosforribosilación por PRPP (estructura II, figura 33-2) de una purina (Pu) libre para formar una purina 5′-mononucleótido (Pu-RP).

$$Pu + PR\text{-}PP \rightarrow Pu\text{-}RP + PP_i$$

La transferencia de fosforilo desde ATP, catalizada por la adenosina e hipoxantina-fosforribosil transferasas (EC 2.4.2.7 y EC 2.4.2.8, respectivamente), convierte a la adenina, hipoxantina y guanina en sus mononucleótidos (**figura 33-4**).

Un segundo mecanismo de recuperación incluye la transferencia de fosforilo desde ATP hacia una purina ribonucleó**sido** (Pu-R):

$$Pu\text{-}R + ATP \rightarrow PuR\text{-}P + ADP$$

La fosforilación de los nucleótidos purina, catalizada por la adenosina cinasa (EC 2.7.1.20), convierte la adenosina y la desoxiadenosina en AMP y dAMP. De manera similar, la desoxicitidina cinasa (EC 2.7.1.24) fosforila a la desoxicitidina y a la 2′-desoxiguanosina, lo que forma dCMP y dGMP.

El hígado, el principal sitio de biosíntesis de nucleótido purina, proporciona purinas y nucleósidos purina para recuperación y para utilización por tejidos incapaces de su biosíntesis. El tejido del cerebro de humanos tiene cifras bajas de PRPP glutamil amidotransferasa, EC 2.4.2.14 (reacción ② figura 33-2) y, por consiguiente, depende en parte de purinas exógenas. Los eritrocitos y los leucocitos polimorfonucleares no pueden sintetizar 5-fosforribosilamina (estructura III, figura 33-2) y, por tanto, también utilizan purinas exógenas para formar nucleótidos.

LA BIOSÍNTESIS HEPÁTICA DE PURINA SE ENCUENTRA ESTRECHAMENTE REGULADA

La retroacción por AMP y GMP regula la PRPP glutamil aminotransferasa

La biosíntesis de IMP es costosa desde el punto de vista energético. Además de ATP, se consumen glicina, glutamina, aspartato y derivados de tetrahidrofolato reducidos. Así, la regulación estrecha de la biosíntesis de purina en respuesta a necesidad fisiológica variable es una ventaja en cuanto a supervivencia. El determinante general de la tasa de biosíntesis de purina nucleótido *de novo* es la concentración de PRPP; ésta depende de la tasa de síntesis, utilización, degradación y regulación de PRPP. La tasa de síntesis de PRPP depende de la disponibilidad de ribosa 5-fosfato y de la actividad de la reacción de la PRPP sintasa, EC 2.7.6.1 (reacción ② **figura 33-5)**, una enzima cuya actividad es inhibida por retroacción por AMP, ADP, GMP y GDP. De este modo, la concentración alta de estos nucleósido fosfatos es una señal para un decremento general, fisiológicamente apropiado, de su biosíntesis.

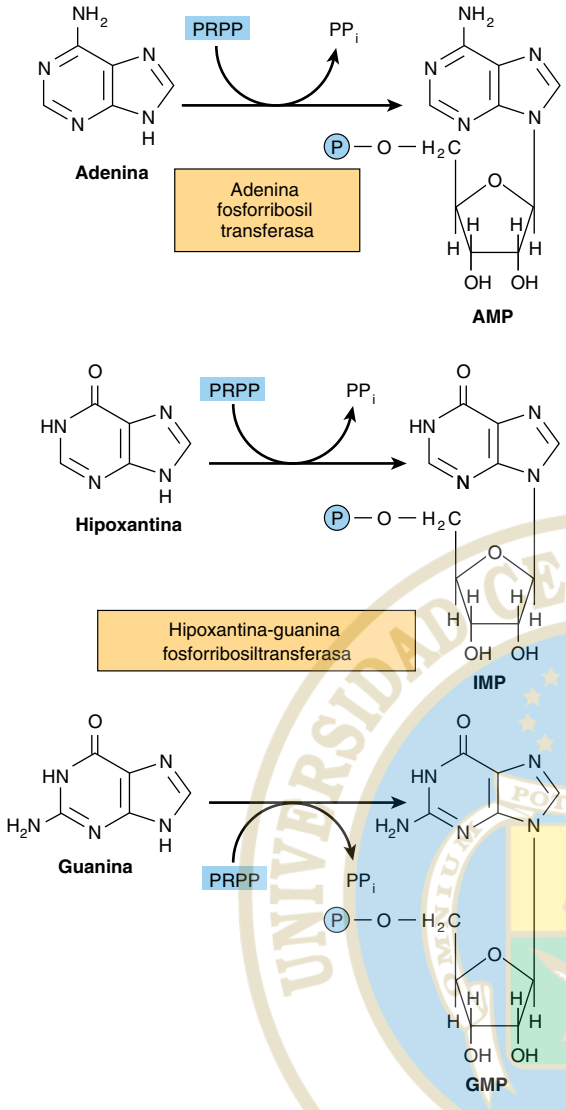


FIGURA 33-4 **Fosforribosilación de adenina, hipoxantina y guanina para formar AMP, IMP y GMP, respectivamente.**

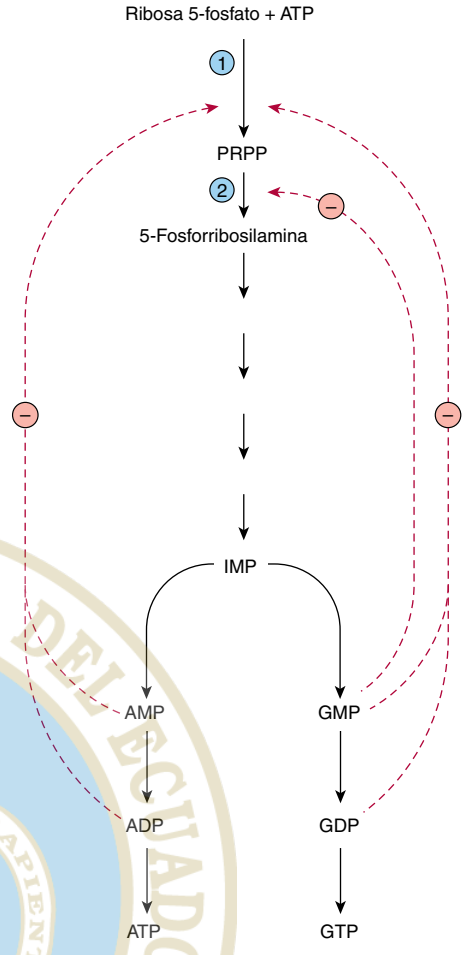


FIGURA 33-5 **Control del índice de la biosíntesis *de novo* de nucleótido purina.** Las reacciones ① y ② son catalizadas por la PRPP sintasa y por la PRPP glutamil amidotransferasa, respectivamente. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas de color rojo discontinuas representan inhibición por retroacción por intermediarios de la vía.

La retroacción por AMP y GMP regula su formación a partir de IMP

Además de regulación en el ámbito de la biosíntesis de PRPP, otros mecanismos regulan la conversión de IMP en ATP y GTP; éstos se resumen en la **figura 33-6**. La retroacción por AMP inhibe la adenilosuccinato sintasa, EC 6.3.4.4 (reacción ⑫, figura 33-3), y el GMP inhibe la IMP deshidrogenasa, EC 1.1.1.205 (reacción ⑭, figura 33-3). Además, la conversión de IMP en adenilosuccinato en ruta al AMP (reacción ⑫, figura 33-3) requiere GTP, y la conversión de xantinilato (XMP) en GMP requiere ATP. Así, esta regulación cruzada entre las vías de metabolismo de IMP sirve para equilibrar la biosíntesis de purina nucleósido trifosfatos al disminuir la síntesis de un nucleótido purina cuando hay deficiencia del otro nucleótido. El AMP y GMP también inhiben a la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa, que convierte a la hipoxantina y la guanina en IMP y GMP (figura 33-4), y el GMP inhibe por retroacción a la PRPP glutamil amidotransferasa (reacción ② figura 33-2).

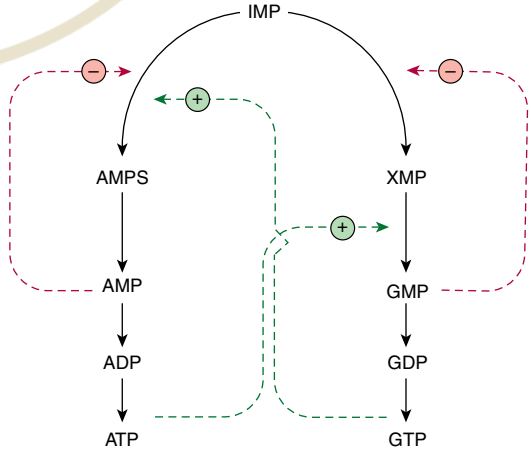


FIGURA 33-6 **Regulación de la conversión de IMP en nucleótidos adenosina y nucleótidos guanosina.** Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas discontinuas representan asas de retroacción positiva ⊕, y las líneas de color rojo discontinuas representan asas de retroacción negativa Θ. Las abreviaturas son AMPS (adenilosuccinato) y XMP (xantosina monofosfato), cuyas estructuras se presentan en la figura 33-3.

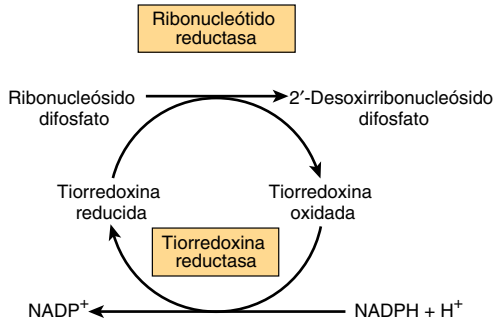


FIGURA 33-7 Reducción de ribonucleósido difosfatos hacia 2′-desoxirribonucleósido difosfatos.

LA REDUCCIÓN DE RIBONUCLEÓSIDO DIFOSFATOS FORMA DESOXIRRIBONUCLEÓSIDO DIFOSFATOS

La reducción del 2′-hidroxilo de purina y pirimidina ribonucleótidos, catalizada por el complejo que incluye a la **ribonucleótido reductasa**, EC1.17.4.1 (**figura 33-7**), proporciona los desoxirribonucleósido difosfatos (dNDP) necesarios tanto para la síntesis de DNA como para la reparación del mismo (capítulo 35). El complejo enzimático sólo es funcional cuando las células están sintetizando de modo activo DNA. La reducción necesita tiorredoxina, tiorredoxina reductasa (EC 1.8.1.9) y NADPH. El reductor inmediato, tiorredoxina reducida, se produce por la NADPH-dependiente de la reducción de oxidación de tiorredoxina (figura 33-7). La reducción de ribonucleósido difosfatos (NDP) hacia dNDP está sujeta a controles reguladores complejos que logran producción equilibrada de dNTP para la síntesis de DNA (**figura 33-8**).

BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PIRIMIDINA

La **figura 33-9** ilustra los intermediarios y las enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina. El catalítico para la reacción inicial es la carbamoil fosfato sintasa II *citosólica* (EC 6.3.5.5) una enzima diferente de la carbamoil fosfato sintasa I *mitocondrial* de la síntesis de la urea (figura 28-16). De esta manera, la compartamentalización proporciona un fondo común independiente de carbamoil fosfato para cada proceso. A diferencia de la biosíntesis de purina, donde el PRPP sirve como un andamio para el montaje del anillo de purina (figura 33-2), en la biosíntesis de pirimidina el PRPP sólo participa después del montaje del anillo de pirimidina. Al igual que para la biosíntesis de pirimidinas, la biosíntesis de nucleósido purina es energéticamente costosa.

Proteínas multifuncionales catalizan las reacciones tempranas de la biosíntesis de pirimidina

Cinco de las primeras seis actividades enzimáticas de la biosíntesis de pirimidina residen en **polipéptidos multifuncionales**. Un polipéptido cataliza las primeras tres reacciones en la figura 33-9. Una segunda enzima bifuncional cataliza las reacciones ⑤ y ⑥ de la figura 33-9. La estrecha proximidad de múltiples sitios activos en un polipéptido multifuncional facilita la canalización eficiente de los intermediarios de la biosíntesis de pirimidina.

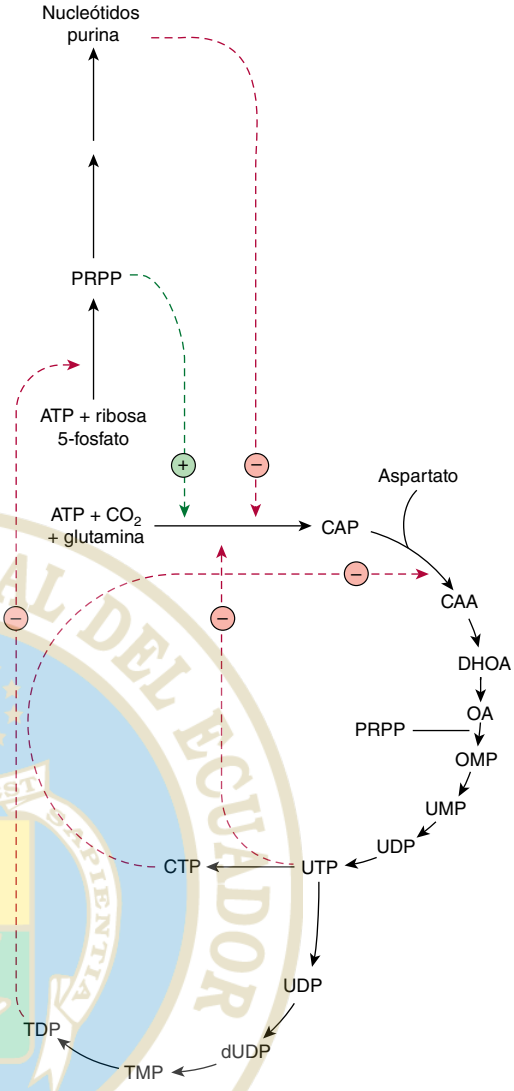


FIGURA 33-8 Aspectos reguladores de la biosíntesis de purina y pirimidina ribonucleótidos, y reducción a sus 2′-desoxirribonucleótidos respectivos. La línea de color verde discontinua representa un asa de retroacción positiva. Las líneas de color rojo discontinuas representan asas de retroacción negativa. Las abreviaturas para los intermediarios en la biosíntesis de pirimidina nucleótidos cuya estructura se proporciona en la figura 33-9 son: (CAA, carbamoil aspartato; DHOA, dihidroorotato; OA, ácido orótico; OMP, orotidina monofosfato, y PRPP, fosforribosil pirofosfato).

LOS DESOXIRRIBONUCLEÓSIDOS DE URACILO Y CITOCINA SON SALVADOS

La adenina, guanina e hipoxantina liberadas durante el recambio de ácidos nucleicos, en especial RNA mensajeros, son reconvertidas en nucleósido trifosfatos por medio de las llamadas **vías**

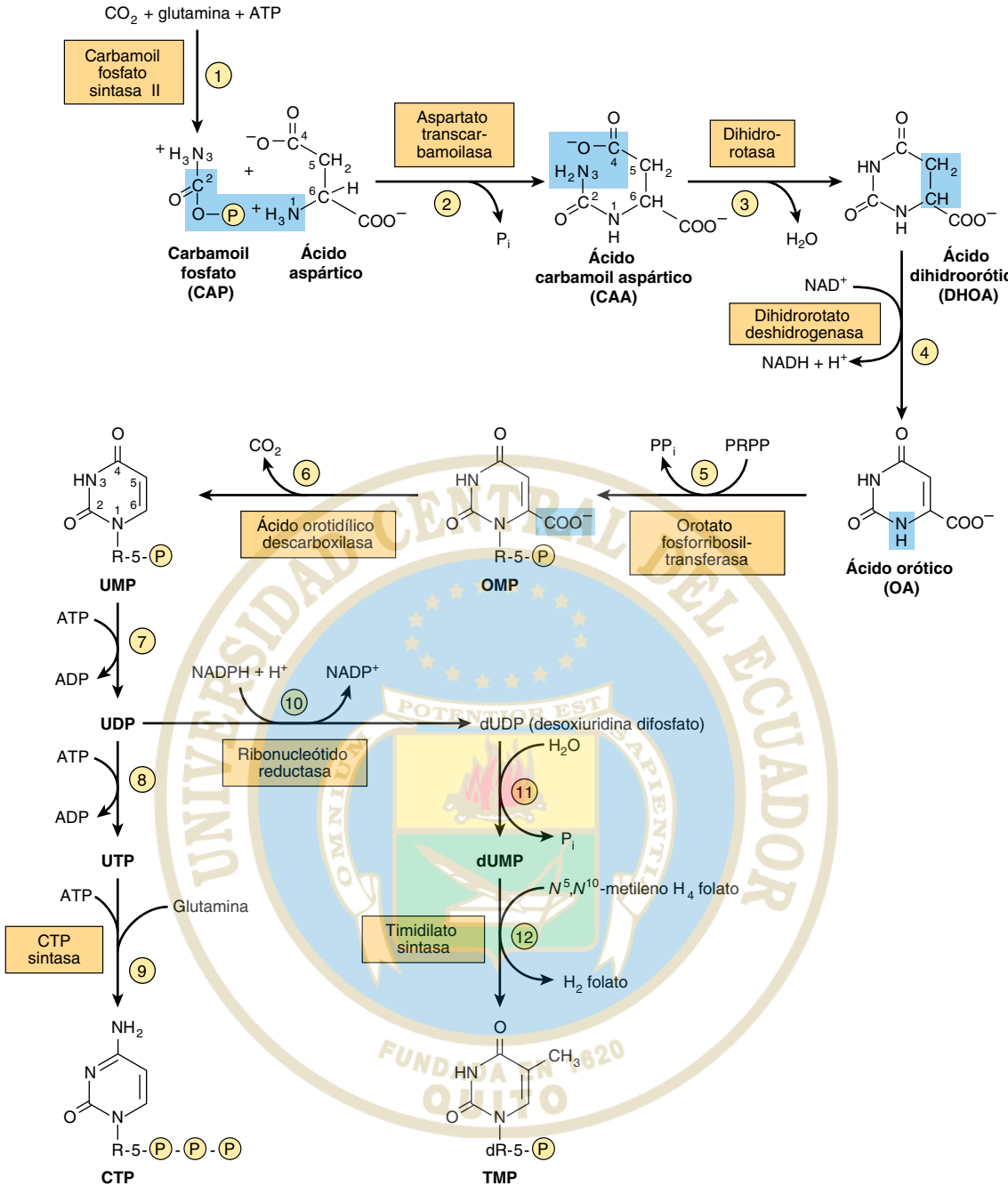


FIGURA 33-9 **La vía biosintética para nucleótidos pirimidina.**

de salvamento. Mientras que las células de mamífero reutilizan pocas pirimidinas *libres*, las "reacciones de recuperación" convierten los pirimidina ribonucleósidos uridina y citidina, y los pirimidina desoxirribonucleósidos timidina y desoxicitidina hacia sus nucleótidos respectivos.

$$\text{Guanina} + \text{PRPP} \rightarrow \text{GMP} + \text{PP}_i$$

$$\text{Hipoxantina} + \text{PRPP} \rightarrow \text{IMP} + \text{PP}_i$$

Las fosforribosiltransferasas (cinasas) catalizan la transferencia del grupo γ-fosforilo de ATP hacia los difosfatos de la dNDP 2′-desoxicitidina, 2′-desoxiguanosina y 2′-desoxiadenosina, convirtiéndolos en sus nucleósido trifosfatos correspondientes.

$$\text{NDP} + \text{ATP} \rightarrow \text{NTP} + \text{ADP}$$

$$\text{dNDP} + \text{ATP} \rightarrow \text{dNTP} + \text{ADP}$$

El metotrexato bloquea la reducción de dihidrofolato

La reacción catalizada por la timidilato sintasa (reacción ⑫ de la figura 33-9) es la única reacción de la biosíntesis de nucleó-

tido pirimidina que requiere un derivado de tetrahidrofolato. Durante esta reacción el grupo metileno del N^5,N^{10}-metilenote trahidrofolato es reducido al grupo metilo que es transferido a la posición 5 del anillo de pirimidina, y el tetrahidrofolato es oxidado hacia dihidrofolato. Para que ocurra más síntesis de pirimidina, el dihidrofolato debe ser reducido de regreso a tetrahidrofolato. Esta reducción, catalizada por la dihidrofolato reductasa (EC 1.5.1.3) es inhibida por el **metotrexato**. Así, las células en división, que deben generar TMP y dihidrofolato, son en especial sensibles a inhibidores de la dihidrofolato reductasa, como el fármaco anticáncer metotrexato.

Ciertos análogos de pirimidina son sustratos para enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina

El **alopurinol** y el fármaco anticáncer **5-fluorouracilo** (figura 32-13) son sustratos alternos para la orotato fosforribosiltransferasa, EC 2.4.2.10 (reacción ⑤, figura 33-9). Ambos fármacos son fosforribosilados, y el alopurinol es convertido en un nucleótido en el cual el ribosil fosfato está fijo a N^1 del anillo de pirimidina.

REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDO PIRIMIDINA

Tanto la expresión de gen como la actividad enzimática están reguladas

El CAD representa el foco primario para la regulación de la biosíntesis de pirimidina. La expresión del gen que codifica para CAD está regulada en los ámbitos tanto de la transcripción como de la traducción. En el ámbito de la actividad enzimática, la actividad de carbamoil fosfato sintasa II (CPS) del CAD es activada por PRPP, y es inhibida por retroacción por UTP. Sin embargo, la fosforilación de la serina 1406 del CAD suprime el efecto del UTP.

Las biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina están reguladas de modo coordinado

Las biosíntesis de purina y pirimidina corren parejas una con otra cuantitativamente, esto es, mol por mol, lo que sugiere control coordinado de su biosíntesis. Varios sitios de *regulación cruzada* caracterizan las vías que conducen a la biosíntesis de nucleótidos purina y pirimidina. La PRPP sintasa (reacción ①, figura 33-2), que forma un precursor esencial para ambos procesos, es inhibida por retroacción por los nucleótidos purina y pirimidina, como en la conversión de pirimidina y nucleótidos de purina NDP a NTP (**figura 33-10**).

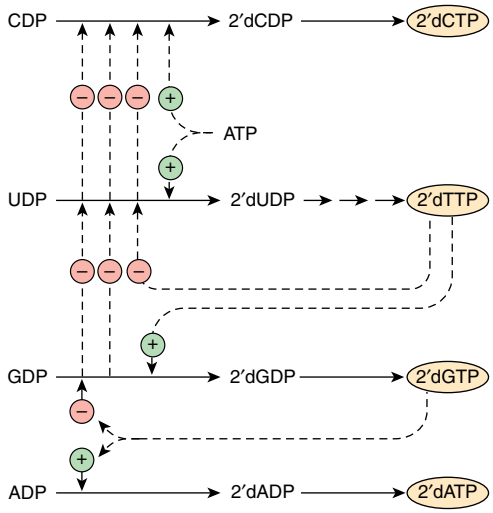


FIGURA 33-10 Regulación de la conversión de purina y pirimidina NDP a NTP. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas punteadas de color verde representan regulación por retroalimentación positiva ⊕, y las de color rojo, retroalimentación negativa ⊖.

LOS HUMANOS CATABOLIZAN LAS PURINAS HACIA ÁCIDO ÚRICO

Los humanos convierten la adenosina y guanosina en ácido úrico (**figura 33-11**). La adenosina desaminasa convierte primero la adenosina en inosina, EC 3.5.4.4. En mamíferos que no son los primates superiores, la uricasa (EC 1.7.3.3) convierte el ácido úrico en el producto hidrosoluble alantoína. Empero, dado que los seres humanos carecen de uricasa, en ellos el producto terminal del catabolismo de la purina es el ácido úrico.

LA GOTA ES UN TRASTORNO METABÓLICO DEL CATABOLISMO DE LA PURINA

Diversos defectos genéticos de la PRPP sintasa (reacción ①, figura 33-2) se presentan en clínica como gota. Cada defecto (p. ej., una $V_{máx}$ alta, afinidad incrementada por la ribosa 5-fosfato, o resistencia a inhibición por retroacción) da por resultado producción y excreción excesivas de catabolitos de purina. Cuando las cifras séricas de urato exceden el límite de solubilidad, el urato de sodio se cristaliza en los tejidos blandos y las articulaciones, y origina una reacción inflamatoria, la **artritis gotosa**. Con todo, la mayor parte de los casos de gota reflejan anormalidades de la manipulación renal de ácido úrico.

OTROS TRASTORNOS DEL CATABOLISMO DE PURINA

Aun cuando los estados de deficiencia de purina son raros en humanos, hay muchos trastornos genéticos del catabolismo de purina. Las **hiperuricemias** pueden diferenciarse con base en si los enfermos excretan cantidades normales o excesivas de uratos totales. Algunas hiperuricemias reflejan defectos enzimáticos específicos. Otras son consecutivas a enfermedades como cáncer o psoriasis que aumentan el recambio de tejido.

Síndrome de Lesch-Nyhan

Es una hiperuricemia por producción excesiva, que se caracteriza por episodios frecuentes de litiasis por ácido úrico, y un síndrome raro de automutilación, que refleja un defecto de la

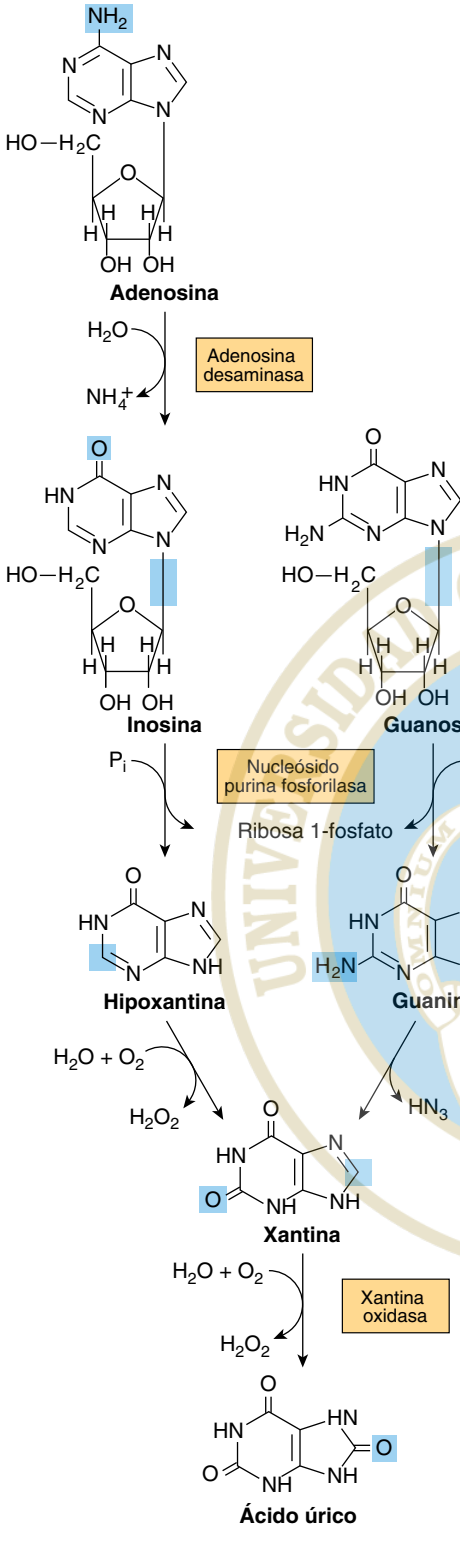


FIGURA 33-11 **Formación de ácido úrico a partir de nucleósidos purina por la vía de las bases purina hipoxantina, xantina y guanina.** Los purina desoxirribonucleósidos son degradados por la misma vía catabólica y por las mismas enzimas, todas las cuales existen en la mucosa del tubo digestivo de mamíferos.

hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa, una enzima de la recuperación de purina (figura 33-4). El incremento acompañante del PRPP intracelular causa producción excesiva de purina. Las mutaciones que aminoran o suprimen la actividad de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa son deleciones, mutaciones por cambio de marco (también conocida como mutación del marco de lectura), sustituciones de bases y empalme aberrante de mRNA.

Enfermedad de Von Gierke

La producción excesiva de purina y la hiperuricemia en la enfermedad de Von Gierke **(deficiencia de glucosa-6-fosfatasa)** son una consecuencia de generación aumentada del precursor de PRPP ribosa 5-fosfato. Una acidosis láctica relacionada incrementa el umbral renal para urato, lo que aumenta los uratos corporales totales.

Hipouricemia

La hipouricemia y la excreción incrementada de hipoxantina y xantina muestran vínculo con deficiencia de **xantina oxidasa**, EC 1.17.3.2 (figura 33-11) debido a un defecto genético o a daño hepático grave. Los individuos con una deficiencia enzimática grave pueden tener xantinuria o litiasis por xantina.

Deficiencia de adenosina desaminasa y de nucleósido purina fosforilasa

La **deficiencia de adenosina desaminasa** (figura 33-11) se relaciona con una enfermedad por inmunodeficiencia en la cual los linfocitos derivados tanto del timo (células T) como de la médula ósea (células B) son escasos y disfuncionales. Los afectados sufren inmunodeficiencia grave. En ausencia de reemplazo de enzima o de trasplante de médula ósea, los lactantes suelen sucumbir a infecciones mortales. La deficiente actividad **de nucleósido purina fosforilasa** (EC 2.4.2.1) muestra vínculo con una deficiencia grave de células T pero función de células B al parecer normal. Las disfunciones inmunitarias parecen depender de acumulación de dGTP y dATP, que inhiben la ribonucleótido reductasa y, de esta manera, agotan los precursores de DNA en las células. En el **cuadro 33-1** se resumen los trastornos conocidos del metabolismo de la purina.

EL CATABOLISMO DE PIRIMIDINAS PRODUCE METABOLITOS HIDROSOLUBLES

Al contrario de los productos de baja solubilidad del catabolismo de la purina, el catabolismo de las pirimidinas forma productos muy hidrosolubles: CO_2, NH_3, β-alanina y β-aminoisobutirato (**figura 33-12**). Los humanos transaminan el β-aminoisobutirato hacia metilmalonato semialdehído, que a continuación forma succinil-CoA (figura 19-2). La excreción de β-aminoisobutirato aumenta en la leucemia y en la exposición grave a rayos X, debido al incremento de la destrucción de DNA. Aun así, muchas personas de ascendencia china o japonesa excretan de modo sistemático β-aminoisobutirato.

Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas del catabolismo de pirimidina; éstos comprenden **aciduria β-hidroxibutírica**, un trastorno debido a deficiencia total o parcial de la enzima **dihidropirimidina deshidrogenasa**, EC 1.3.1.2 (figura 33-12). La

CUADRO 33-1 Trastornos metabólicos del metabolismo de purina y pirimidina

Enzima defectuosa	Número de catálogo de la enzima	Referencia OMIM	Signos y síntomas principales	Figura y reacción
Metabolismo de la purina				
Hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa	2.4.2.8	308000	Síndrome de Lesch-Nyhan Uricemia; automutilación	33–4 ②
PRPP sintasa	2.7.6.1	311860	Gota, artritis gotosa	33–2 ①
Adenosina desaminasa	3.5.4.6	102700	Sistema inmunitario con afectación grave	33–1 ①
Fosforilasa de nucleósido de purina	2.4.2.1	164050	Trastornos autoinmunitarios benignos e infecciones oportunistas	33–11 ②
Metabolismo de pirimidina				
Dihidroxipirimidina deshidrogenasa	1.3.1.2	274270	Pueden desarrollar toxicidad a 5-fluorouracilo, también un sustrato para esta deshidrogenasa	33–12 ②
Orotato fosforribosil transferasa y ácido orotidílico descarboxilasa	2.4.2.10 y 4.1.1.23	258900	Aciduria por ácido orótico tipo 1; anemia megaloblástica	33–9 ⑤ y ⑥
Ácido orotidílico descarboxilasa	4.1.1.23	258920	Aciduria orótica tipo 2	33–9 ⑥

enfermedad genética refleja una falta de la enzima. Un trastorno del catabolismo de pirimidina, también conocido como uraciluria-timinuria combinada es, asimismo, un trastorno del metabolismo de β-aminoácido, puesto que la *formación* de β-alanina y de β-aminoisobutirato está alterada. Cuando se debe a un error congénito, hay serias complicaciones neurológicas. Una forma no genética se desencadena por la administración del fármaco anticáncer 5-fluorouracilo (**figura 32-13**) a pacientes que tienen concentraciones bajas de dihidropirimidina deshidrogenasa.

La seudouridina se excreta sin cambios

Ninguna enzima de humano cataliza la hidrólisis o la fosforólisis de la seudouridina (ψ) derivada de la degradación de moléculas de RNA; por ende, este nucleótido poco común se excreta sin cambios en la orina de sujetos normales. De hecho, la seudouridina se aisló por vez primera a partir de orina de ser humano (figura 33-13).

LA PRODUCCIÓN EXCESIVA DE CATABOLITOS DE PIRIMIDINA SÓLO RARA VEZ SE RELACIONA CON ANORMALIDADES IMPORTANTES EN CLÍNICA

Dado que los productos terminales del catabolismo de la pirimidina son muy hidrosolubles, la producción excesiva de pirimidina suscita pocos signos o síntomas clínicos. El cuadro 33-1 lista excepciones. En la hiperuricemia vinculada con producción excesiva grave de PRPP, hay producción exagerada de nucleótidos pirimidina y excreción aumentada de β-alanina. Dado que se necesita N^5,N^{10}-metileno-tetrahidrofolato para la síntesis del timidilato, los trastornos del metabolismo del folato y de la vitamina B_{12} producen deficiencias de TMP.

Acidurias oróticas

La aciduria orótica que acompaña al **síndrome de Reye** probablemente es una consecuencia de la incapacidad de mitocondrias dañadas de manera grave para usar carbamoil fosfato, que entonces queda disponible para la producción citosólica excesiva de ácido orótico. La **aciduria orótica tipo I** refleja una deficiencia tanto de orotato fosforribosiltransferasa, (EC 2.1.3.3) y de orotidilato descarboxilasa, EC 4.1.1.23 (reacciones ⑤ y ⑥, figura 33-9); la **aciduria orótica tipo II**, más rara, se debe a una deficiencia sólo de orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9).

La deficiencia de una enzima del ciclo de la urea ocasiona excreción de precursores de pirimidina

La excreción incrementada de ácido orótico, uracilo y uridina acompaña a una deficiencia de ornitina transcarbamoilasa en las mitocondrias del hígado (reacción ②, figura 28-16). El carbamoil fosfato excesivo sale hacia el citosol, donde estimula la biosíntesis de nucleótido pirimidina. Los alimentos con alto contenido de nitrógeno aumentan la **aciduria orótica** leve resultante.

La aciduria orótica puede precipitarse por fármacos

El **alopurinol** (figura 32-13), un sustrato alternativo para la orotato fosforribosiltransferasa (reacción ⑤, figura 33-9), compite con el ácido orótico. El producto nucleótido resultante también inhibe a la orotidilato descarboxilasa (reacción ⑤, figura 33-9),

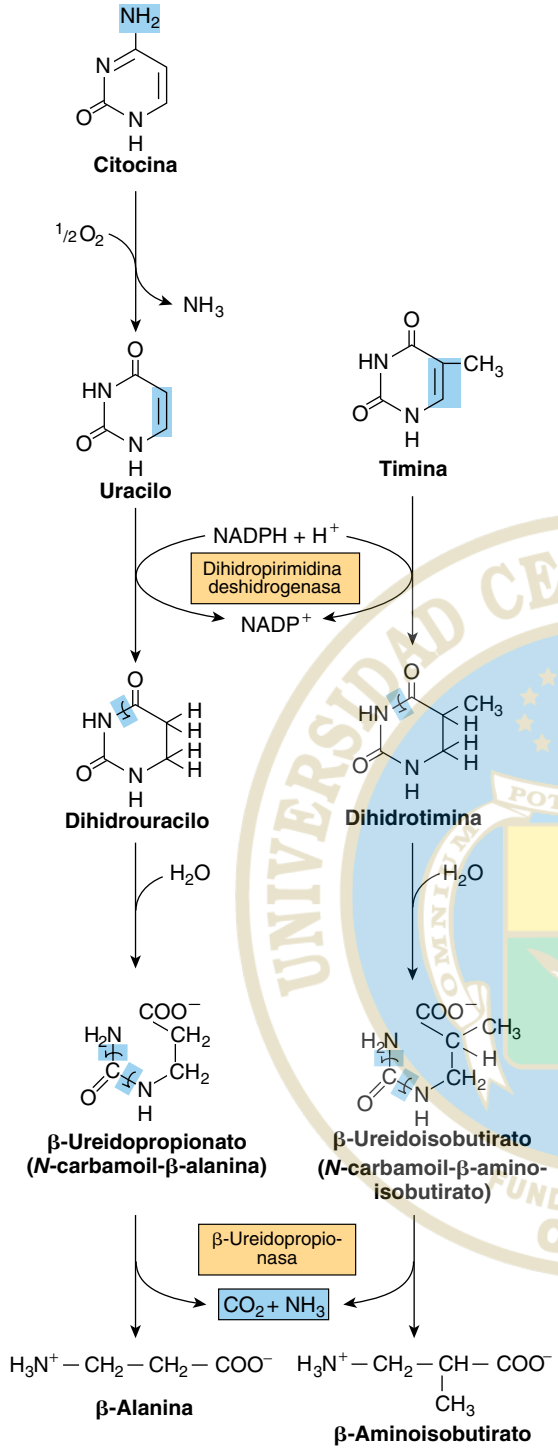


FIGURA 33-12 **Catabolismo de las pirimidinas.** La β-ureidopropionasa hepática cataliza la formación tanto de β-alanina como de β-aminoisobutirato a partir de sus precursores de pirimidina.

lo que da por resultado **aciduria orótica y orotidinuria**. La 6-azauridina, después de conversión en 6-azauridilato, también inhibe de manera competitiva a la orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9), lo que incrementa la excreción de ácido orótico y orotidina. Se han identificado cuatro genes que codifican para transportadores de urato. Dos de las proteínas codificadas están ubicadas en la membrana apical de células de los túbulos proximales.

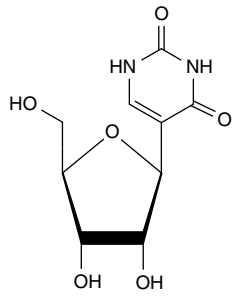


FIGURA 33-13 **Seudouridina, en la cual la ribosa está enlazada al C5 de la uridina.**

RESUMEN

- Los ácidos nucleicos ingeridos se degradan hacia purinas y pirimidinas. Se forman nuevas purinas y pirimidinas a partir de intermediarios anfibólicos y, de este modo, son no esenciales en la dieta.
- Varias reacciones de la biosíntesis del IMP requieren derivados del folato y glutamina. En consecuencia, los fármacos antifolato y los análogos de la glutamina inhiben la biosíntesis de purina.
- El IMP es un precursor tanto del AMP como del GMP. La glutamina proporciona el grupo 2-amino del GMP, y el aspartato, el grupo 6-amino del AMP.
- La transferencia de fosforilo desde el ATP convierte el AMP y el GMP en ADP y GDP. Una segunda transferencia de fosforilo desde el ATP forma GTP, pero el ADP es convertido en ATP principalmente mediante fosforilación oxidativa.
- La biosíntesis hepática de nucleótido purina está estrictamente regulada por el tamaño del fondo común de PRPP y por inhibición por retroacción de la PRPP-glutamil amidotransferasa por el AMP y GMP.
- La regulación coordinada de la biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina asegura su presencia en proporciones apropiadas para la biosíntesis de ácido nucleico y otras necesidades metabólicas.
- Los humanos catabolizan las purinas hacia ácido úrico (pK_a de 5.8), presente como el ácido relativamente insoluble a pH ácido o como su sal urato de sodio más soluble a un pH cercano a la neutralidad. Los cristales de urato son diagnósticos de gota. Otros trastornos del catabolismo de la purina son el síndrome de Lesch-Nyhan, la enfermedad de Von Gierke y las hipouricemias.
- Puesto que los catabolitos de la pirimidina son hidrosolubles, su producción excesiva no origina anormalidades clínicas. Comoquiera que sea, la excreción de precursores de pirimidina puede depender de una deficiencia de la ornitina transcarbamoilasa porque el carbamoil fosfato excesivo está disponible para la biosíntesis de pirimidina.

REFERENCIAS

Brassier A, Ottolenghi C, Boutron A, *et al*: Dihydrolipoamide dehydrogenase deficiency: a still overlooked cause of recurrent acute liver failure and Reye-like syndrome. Mol Genet Metab 2013;109:28.

Christopherson RI, Lyons SD, Wilson PK: Inhibitors of de novo nucleotide biosynthesis as drugs. Acc Chem Res 2002;35:961.

Evans DR, Guy HI: Mammalian pyrimidine biosynthesis: Fresh insights into an ancient pathway. J Biol Chem 2004;279:33035.

Fu R, Jinnah HA: Genotype-phenotype correlations in Lesch-Nyhan disease: moving beyond the gene. J Biol Chem 2012;287:2997.

Fu W, Li Q, Yao J, *et al*: Protein expression of urate transporters in renal tissue of patients with uric acid nephrolithiasis. Cell Biochem Biophys 2014;70:449.

Kamal MA, Christopherson RI: Accumulation of 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate in human CCRF-CEM leukemia cells treated with antifolates. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:957.

Martinez J, Dugaiczyk LJ, Zielinski R, *et al*: Human genetic disorders, a phylogenetic perspective. J Mol Biol 2001;308:587.

Moyer RA, John DS: Acute gout precipitated by total parenteral nutrition. J Rheumatol 2003;30:849.

Pettengill M, Robson S, Tresenriter M, *et al*: Soluble ecto-5′-nucleotidase (5′-NT), alkaline phosphatase, and adenosine deaminase (ADA1) activities in neonatal blood favor elevated extracellular adenosine. J Biol Chem 2013;288:27315.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Uehara I, Kimura T, Tanigaki S, *et al*: Paracellular route is the major urate transport pathway across the blood-placental barrier. Physiol Rep 2014;20:2.

Wu VC, Huang JW, Hsueh PR, *et al*: Renal hypouricemia is an ominous sign in patients with severe acute respiratory syndrome. Am J Kidney Dis 2005;45:88.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO

34

Estructura y función del ácido nucleico

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender la estructura química monomérica y polimérica del material genético, el ácido desoxirribonucleico, o DNA, que se encuentra dentro del núcleo de células eucariontes.
- Explicar por qué el DNA eucarionte nuclear genómico es bicatenario y tiene carga altamente negativa.
- Entender el esbozo de cómo la información genética del DNA puede duplicarse fielmente.
- Entender cómo la información genética del DNA se transcribe, o se copia, hacia muchísimas formas distintas de ácido ribonucleico (RNA).
- Apreciar que una forma de RNA rico en información, el llamado RNA mensajero (mRNA), puede traducirse después hacia proteínas, las moléculas que constituyen las estructuras, las formas, y finalmente las funciones de células individuales, tejidos y órganos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El descubrimiento de que la información genética está codificada a lo largo de una molécula polimérica compuesta de sólo cuatro tipos de unidades monoméricas fue uno de los principales logros científicos del siglo xx. Esta molécula polimérica, el **ácido desoxirribonucleico (DNA)**, es la base química de la herencia, y está organizada en genes, las unidades fundamentales de la información genética. Se ha dilucidado la vía de información básica (es decir, el DNA, que dirige la síntesis de RNA, que a su vez dirige y regula la síntesis de proteína). Los genes no funcionan de modo autónomo; su replicación y función están controladas por diversos productos de gen, a menudo en colaboración con componentes de diversas vías de transducción de señal. El conocimiento de la estructura y función de los ácidos nucleicos es esencial para entender los aspectos genéticos y muchos aspectos de la fisiopatología, así como la base genética de la enfermedad.

EL DNA CONTIENE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

En 1944, en una serie de experimentos efectuados por Avery, MacLeod y McCarty, se demostró por vez primera que el DNA contiene la información genética. Mostraron que la determinación genética de la naturaleza (el tipo) de la cápsula de un neumococo específico podía transmitirse a otro de un tipo capsular diferente al introducir DNA purificado desde el primer coco hacia el segundo. Estos autores denominaron "factor transformador" al agente que lograba el cambio (que más tarde se mostró que es el DNA). Después, este tipo de manipulación genética se ha hecho común. Recientemente se han llevado a cabo experimentos similares utilizando levaduras, células en cultivo de vegetales y mamíferos, y embriones de insectos y de mamíferos como receptores, y DNA clonado desde el punto de vista molecular como el donador de información genética.

El DNA contiene cuatro desoxinucleótidos

La naturaleza química de las unidades de desoxinucleótido monoméricas del DNA (**desoxiadenilato, desoxiguanilato, desoxicitidilato** y **timidilato**) se describe en el capítulo 32; estas unidades monoméricas del DNA se mantienen en forma polimérica por medio de enlaces 3′,5′-fosfodiéster que constituyen una cadena única (**figura 34-1**). El contenido informacional del DNA (el código genético) reside en la secuencia en la cual están ordenados estos monómeros (purina y pirimidina desoxirribonucleótidos). El polímero como se describe posee una polaridad; un extremo tiene un 5′-hidroxilo o fosfato terminal, mientras que el otro tiene un 3′-fosfato o hidroxilo terminal. La importancia de esta polaridad quedará de manifiesto. Dado que la información genética reside en el orden de las unidades monoméricas dentro de los polímeros, es necesario que haya un mecanismo

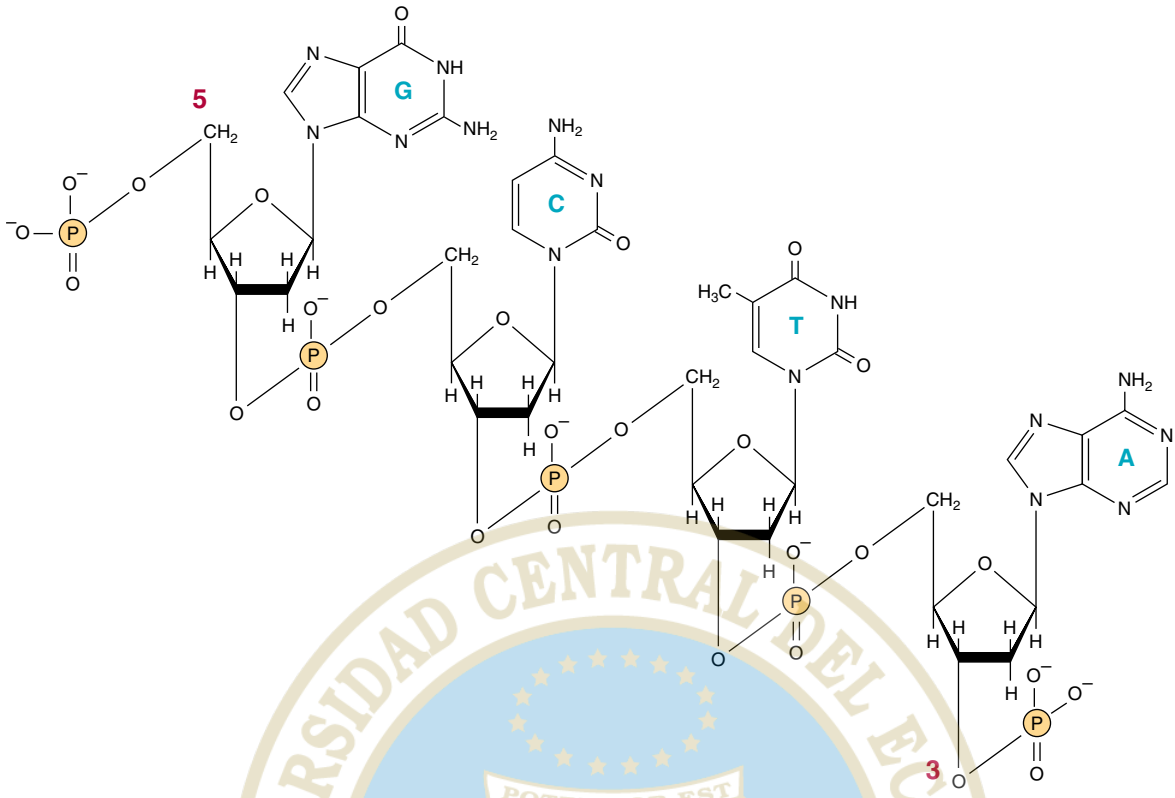


FIGURA 34-1 Un segmento de una cadena de una molécula de DNA en la cual las bases purina y pirimidina: guanina (G), citocina (C), timina (T) y adenina (A), se mantienen juntas mediante un esqueleto fosfodiéster entre las porciones 2′-desoxirribosilo fijas a las nucleobases por medio de un enlace *N*-glucosídico. Note que el esqueleto tiene una polaridad (esto es, una dirección). La convención dicta que una secuencia de DNA de una sola cadena está escrita en la dirección 5′ a 3′ (o sea, pGpCpTpA, donde G, C, T y A representan las cuatro bases, y p representa los fosfatos que producen interconexiones).

para reproducir o replicar esta información específica con un alto grado de fidelidad. Ese requerimiento, junto con datos de difracción con rayos X de la molécula de DNA, y la observación de Chargaff de que en las moléculas de DNA la concentración de nucleótidos desoxiadenosina (A) es igual a la de nucleótidos timidina (T) (A = T), mientras que la de nucleótidos desoxiguanosina (G) es igual a la de nucleótidos desoxicitidina (C) (G = C), condujeron a Watson, Crick y Wilkins a proponer a principios del decenio de 1950-1959 un modelo de una molécula de DNA bicatenario. El modelo que propusieron se presenta en la **figura 34-2**. Las dos cadenas de esta hélice bicatenaria se mantienen en registro por medio tanto de **enlaces de hidrógeno** entre las bases purina y pirimidina de las moléculas lineales respectivas, como de **interacciones de Van der Waals** e **hidrofóbicas** entre los pares de bases adyacentes apilados. La formación de pares entre los nucleótidos purina y pirimidina en las cadenas opuestas es muy específica, y depende del enlace de hidrógeno de **A con T** y de **G con C** (figura 34-2).

Se dice que esta forma común de DNA es diestra porque al mirar la doble hélice desde arriba, los residuos base forman una espiral en el sentido de las manecillas del reloj. En la molécula bicatenaria, las restricciones impuestas por la rotación alrededor del enlace fosfodiéster, la anticonfiguración favorecida del enlace glucosídico (figura 32-5), y los tautómeros predominantes (figura 32-2) de las cuatro bases (A, G, T y C) permiten que A únicamente forme par con T, y que G sólo forme par con C, como se muestra en la **figura 34-3**. Esta restricción de la formación de pares de bases explica la observación más temprana de que en una molécula de DNA bicatenario el contenido de A es igual al de T, y el de G es igual al de C. Las dos cadenas de la molécula de doble hélice, cada una de las cuales posee una **polaridad**, son **antiparalelas**; esto es, una cadena corre en la dirección de 5′ a 3′, y la otra en la dirección de 3′ a 5′. Dentro de un gen particular, en las moléculas de DNA bicatenario, la información genética reside en la secuencia de nucleótidos en una cadena, la **cadena plantilla**; ésta es la cadena de DNA que se copia durante la síntesis de **ácido ribonucleico (RNA)**. A veces se llama cadena **no codificadora.** La cadena opuesta se considera la **cadena codificadora** porque coincide con la secuencia de la transcripción de RNA (pero contiene uracilo en lugar de timina; figura 34-8) que codifica para la proteína.

Las dos cadenas, en las cuales bases opuestas se mantienen juntas mediante enlaces de hidrógeno intercadena, giran alrededor de un eje central en la forma de una **doble hélice**. En el tubo de ensayo el DNA bicatenario puede existir en al menos seis formas (A a E, y Z). Estas diferentes formas de DNA difieren respecto a interacciones intracadena e intercadena, y comprenden reordenamientos estructurales dentro de las unidades monoméricas de DNA. Estos reordenamientos son fundamentalmente similares a los descritos para aminoácidos dentro de polipéptidos (p. ej., figura 3-4). La forma B por lo general se encuentra en condiciones fisiológicas (sal baja, alto grado de hidratación). Un

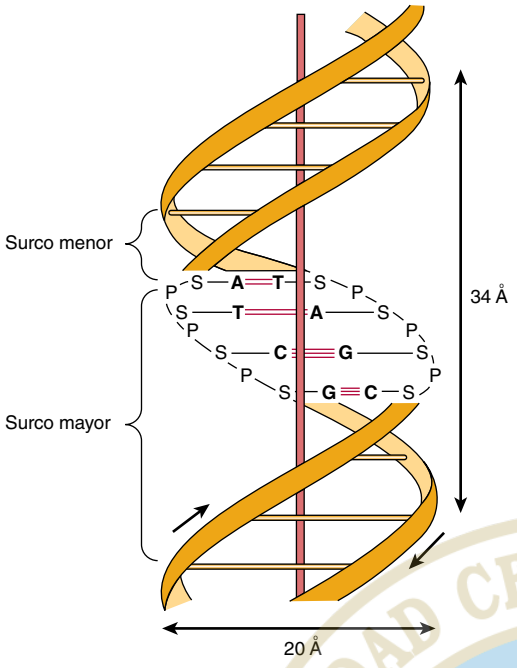


FIGURA 34-2 Diagrama que representa el modelo de Watson y Crick de la estructura de doble hélice de la forma B del DNA. La flecha horizontal indica la anchura de la doble hélice (20 Å), y la flecha vertical indica la distancia abarcada por un giro completo de la doble hélice (34 Å). Un giro del B-DNA incluye 10 pares de bases (bp), de manera que el aumento es de 3.4 Å por bp. La varilla vertical indica el eje central de la doble hélice. Las flechas cortas designan la polaridad de las cadenas antiparalelas. Se muestran los surcos mayor y menor. (A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina; P, fosfato; S, azúcar [desoxirribosa].) Las líneas horizontales, cortas, de color rojo indican los enlaces de hidrógeno entre bases A/T y G/C.

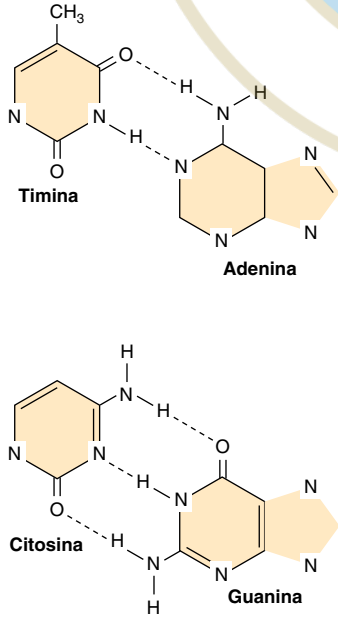


FIGURA 34-3 El pareado de bases de DNA entre desoxinucleótidos complementarios comprende la formación de enlaces de hidrógeno. Dos de esos enlaces de H se forman entre la adenina y la tiamina, y tres enlaces de H se forman entre la citidina y la guanina. Las líneas discontinuas representan enlaces de H.

solo giro de B-DNA alrededor del eje largo de la molécula contiene 10 pares de bases. La distancia abarcada por un giro del B-DNA es de 3.4 nm (34 Å). La anchura (el diámetro de la hélice) de la doble hélice en el B-DNA es de 2 nm (20 Å).

Tres enlaces de hidrógeno, formados por hidrógeno unido a átomos de N u O electronegativos (figura 34-3), sujetan el nucleótido desoxiguanosina al nucleótido desoxicitidina, mientras que dos enlaces de hidrógeno mantienen junto el otro par, el par A═T. Así, los enlaces G═C son más resistentes a la desnaturalización, o separación de cadena, denominada "fusión", que las regiones de DNA con alto contenido de A═T.

La desnaturalización de DNA se usa para analizar su estructura

La estructura bicatenaria del DNA puede separarse en dos cadenas componentes en solución al aumentar la temperatura o disminuir las cifras de sal. Las dos pilas de bases no sólo se separan, sino que las bases mismas se desapilan mientras que aún están conectadas en el polímero por el esqueleto fosfodiéster. Concomitante con esta desnaturalización de la molécula de DNA hay un incremento de la absorbancia óptica de las bases purina y pirimidina, fenómeno llamado **hipercromicidad** de la desnaturalización. Debido al apilamiento de las bases y a la formación de enlaces de hidrógeno entre las pilas, la molécula de DNA bicatenario muestra propiedades de una varilla rígida, y en solución es un material viscoso que pierde su viscosidad en el momento de la desnaturalización.

Las cadenas de una molécula de DNA dada se separan en un rango de temperatura. El punto medio se denomina la **temperatura de fusión, o T_m**. La T_m está influida por la composición de bases del DNA y por la concentración de sal de la solución. El DNA rico en pares G═C, que tienen tres enlaces de hidrógeno, se fusiona a una temperatura más alta que el que abunda en pares A═T, que tienen dos enlaces de hidrógeno. Un incremento de 10 veces de la concentración de catión monovalente aumenta la T_m 16.6 °C al neutralizar la repulsión intercadena intrínseca entre los fosfatos con carga altamente negativa del esqueleto de fosfodiéster. El solvente orgánico formamida, que a menudo se usa en experimentos de DNA recombinante, desestabiliza los enlaces de hidrógeno entre las bases, y por eso aminora la T_m. La adición de formamida permite que las cadenas de DNA o los híbridos de DNA-RNA se separen a temperaturas mucho más bajas, y minimiza la rotura de enlaces fosfodiéster que puede ocurrir a temperaturas más altas.

La renaturalización del DNA requiere coincidencia de pares de bases

Es importante señalar que las cadenas separadas de DNA se renaturalizarán o reasociarán cuando se logren condiciones de temperatura y sal fisiológicas apropiadas; este proceso de retemplado suele llamarse **hibridación**. El índice de reasociación depende de la concentración de las cadenas complementarias. La reasociación de las dos cadenas de DNA complementarias de un cromosoma luego de transcripción es un ejemplo fisiológico de renaturalización (véase más adelante). A una temperatura y cifras de sal dadas, una cadena de ácido nucleico particular se asociará de manera estrecha sólo con una cadena complementaria. Las

moléculas híbridas también se formarán en condiciones apropiadas. Por ejemplo, el DNA formará un híbrido, con un DNA complementario (cDNA) o con un RNA complementario (p. ej ., mRNA; véase más adelante) cognado. Cuando la hibridización se combina con técnicas de electroforesis en gel que separan ácidos nucleicos por tamaño, junto con marcado radiactivo o fluorescente para proporcionar una señal detectable, las técnicas analíticas resultantes se denominan **electrotransferencia Southern (DNA/DNA)** y **Northern (RNA-DNA)**, respectivamente. Estos procedimientos permiten identificación muy clara, y muy sensible, de especies de ácido nucleico específicas a partir de mezclas complejas de DNA o RNA (capítulo 39).

La molécula de DNA tiene surcos

El examen cuidadoso del modelo descrito en la figura 34-2 revela un **surco mayor** y un **surco menor** que dan vueltas a lo largo de la molécula paralelos a los esqueletos fosfodiéster. En estos surcos, las proteínas pueden interactuar de modo específico con átomos expuestos de los nucleótidos (por medio de interacciones hidrofóbicas y iónicas específicas) y por ello reconocen, y se unen a, secuencias de nucleótido específicas, así como las únicas formas constituidas a partir de ahí. La unión ocurre regularmente sin alterar la formación de pares de bases de la molécula de DNA de doble hélice. Como se explica en los capítulos 36 y 38, proteínas reguladoras controlan la expresión de genes específicos mediante esas interacciones.

El DNA existe en formas relajada y superenrollada

En algunos organismos, como bacterias, bacteriófagos, muchos virus de animales que contienen DNA, así como organelos como las mitocondrias (figura 35-8), los extremos de las moléculas de DNA están unidos para crear un círculo cerrado sin extremos covalentemente libres. Claro que esto no destruye la polaridad de las moléculas, pero elimina todos los grupos hidroxilo y fosforilo 3′ y 5′. Los círculos cerrados existen en formas relajada y superenrollada. Las superhélices se introducen cuando un círculo cerrado se gira alrededor de su propio eje o cuando un fragmento lineal del DNA dúplex, cuyos extremos están fijos, se tuerce. Este proceso que necesita energía coloca a la molécula bajo tensión de torsión, y mientras mayor es el número de superhélices, mayor es la tensión o torsión (esto se prueba al torcer una banda de caucho, goma o liga). Las **superhélices negativas** se forman cuando la molécula se tuerce en la dirección opuesta desde las vueltas en la dirección de las manecillas del reloj de la doble hélice diestra que se encuentra en el B-DNA. Se dice que ese DNA está subgirado. La energía requerida para lograr este estado se encuentra, en cierto sentido, almacenada en las superhélices. Por ello, el subgiro facilita la transición hacia otra forma que requiere energía (figura 35-19). Una transición de ese tipo es la separación de cadena, que es un prerrequisito para la replicación y transcripción del DNA. En consecuencia, el DNA superenrollado es una forma preferida en sistemas biológicos. Las enzimas que catalizan cambios topológicos del DNA se llaman **topoisomerasas**, las cuales pueden relajar o insertar superhélices, usando ATP como una fuente de energía. Hay homólogos de esta enzima en todos los organismos, y son blancos importantes de la quimioterapia de cáncer. También pueden formarse superhélices dentro de DNA lineales si segmentos particulares de DNA son constreñidos al interactuar estrechamente con proteínas nucleares que establecen dos sitios frontera que definen un dominio topológico.

EL DNA PROPORCIONA UNA PLANTILLA PARA REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN

La información genética almacenada en la secuencia de nucleótido del DNA tiene dos propósitos. Es la fuente de información para la síntesis de todas las moléculas de proteína de la célula y el organismo, y proporciona la información heredada por células hijas o por la descendencia. Ambas funciones requieren que la molécula de DNA sirva como una plantilla, en el primer caso para la transcripción de la información hacia el RNA, y en el segundo para la replicación de la información hacia moléculas de DNA hijas.

Cuando cada cadena de la molécula de DNA bicatenario madre se separa desde su complemento en el transcurso de la

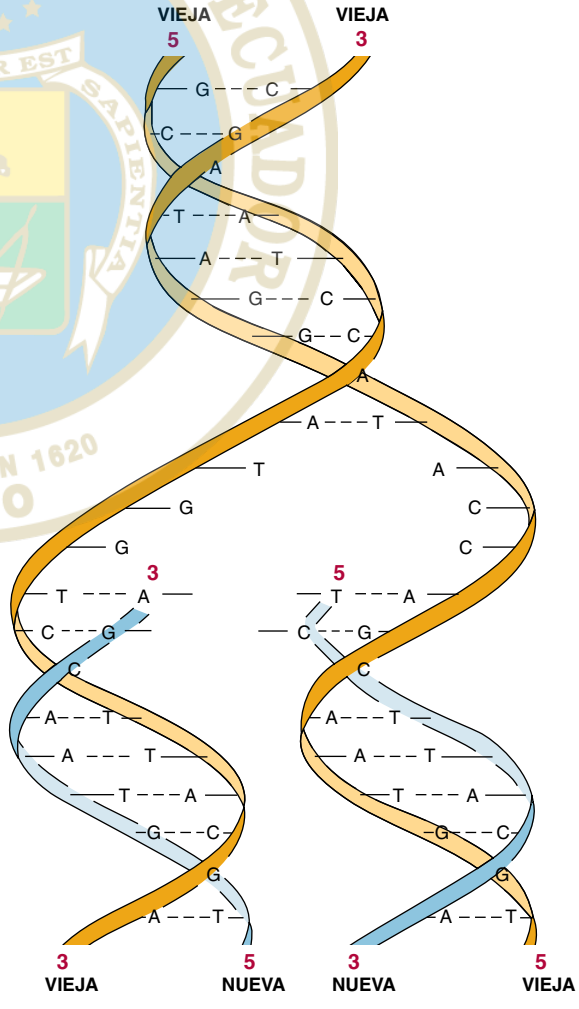


FIGURA 34-4 La síntesis de DNA mantiene la estructura del DNA. La estructura bicatenaria del DNA y la función de plantilla de cada cadena vieja (anaranjada) sobre la cual se sintetiza una nueva cadena complementaria (azul).

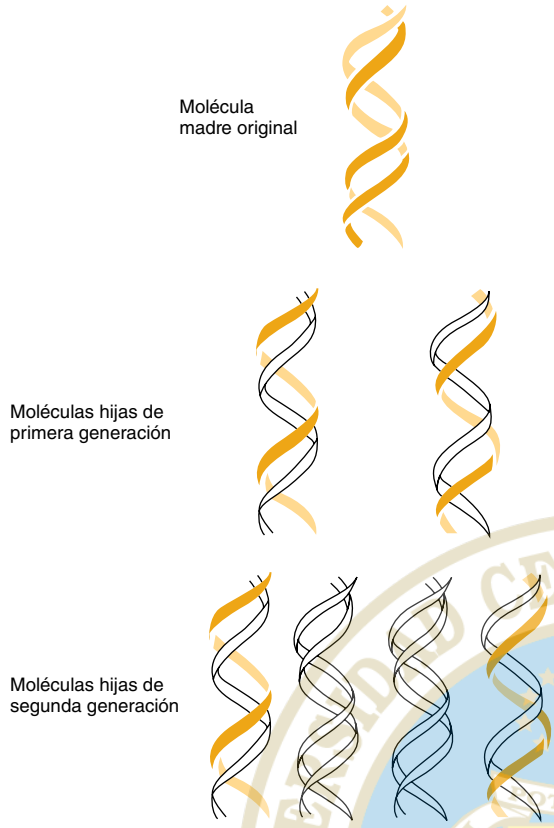


FIGURA 34-5 La replicación de DNA es semiconservadora. Durante una ronda de replicación, cada una de las dos cadenas de DNA es usada como una plantilla para la síntesis de una nueva cadena complementaria. La naturaleza semiconservadora de la replicación del DNA tiene implicaciones para los controles bioquímico (figura 35-16), citogenético (figura 35-2) y epigenético de la expresión de gen (figuras 38-8 y 38-9).

replicación, cada una sirve de manera independiente como una plantilla con base en la cual se sintetiza una nueva cadena complementaria (**figura 34-4**). Las dos moléculas de DNA bicatenario hijas recién formadas, cada una de las cuales contiene una cadena (pero complementaria más que idéntica) de la molécula de DNA bicatenario madre, a continuación se separan entre las dos células hija durante la mitosis (**figura 34-5**). Cada célula hija contiene moléculas de DNA con información idéntica a la que poseía la célula madre; sin embargo, en cada célula hija la molécula de DNA de la célula madre únicamente se ha semiconservado.

LA NATURALEZA QUÍMICA DEL RNA DIFIERE DE LA DEL DNA

El ácido ribonucleico (RNA) es un polímero de purina y pirimidina ribonucleótidos unidos entre sí por enlaces 3′,5′-fosfodiéster análogos a los que están en el DNA (**figura 34-6**). Aun cuando comparte muchas características con el DNA, el RNA posee varias diferencias específicas:

1. En el RNA, la parte azúcar a la cual los fosfatos y las bases purina y pirimidina están fijos es ribosa en lugar de la 2′-desoxirribosa del DNA (figuras 19-2 y 32-3).
2. Los componentes pirimidina del RNA difieren de los del DNA. Si bien el RNA contiene los ribonucleótidos de adenina, guanina y citocina, no posee timina excepto en el raro caso que se menciona más adelante. En lugar de timina, el RNA contiene el ribonucleótido de uracilo.
3. El RNA típicamente existe como una cadena única, mientras que el DNA existe como una molécula helicoidal bicatenaria. Empero, dada la secuencia de bases complementaria apropiada con polaridad opuesta, la cadena única de RNA (como se demuestra en la **figura 34-7** y la figura 34-11) tiene la capacidad de plegarse sobre sí misma a manera de horquilla y, de este modo, adquirir características bicatenarias: G que forma pares con C, y A con U.
4. Puesto que la molécula de RNA es una cadena única complementaria a sólo una de las dos cadenas de un gen, su contenido de guanina no necesariamente es igual a su contenido de citocina, ni su contenido de adenina es necesariamente igual a su contenido de uracilo.
5. Los álcalis pueden hidrolizar al RNA hacia diésteres 2′,3′ cíclicos de los mononucleótidos, compuestos que no se pueden formar a partir de DNA tratado con álcali debido a la ausencia de un grupo 2′-hidroxilo. La labilidad del RNA a álcali es útil con fines tanto diagnósticos como analíticos.

La información dentro de la cadena única de RNA está contenida en su secuencia (“estructura primaria”) de nucleótidos purina y pirimidina dentro del polímero. La secuencia es complementaria a la cadena plantilla del gen a partir del cual se transcribió. Debido a esta complementariedad, una molécula de RNA puede unirse de manera específica por medio de las reglas de formación de pares de bases a su cadena de DNA plantilla (**A**═T, **G**═C, **C**═G, **U**═A; la base de RNA va en negritas); no se unirá (“hibridará”) con la otra cadena (codificadora) de su gen. La secuencia de la molécula de RNA (salvo por U que reemplaza a T) es la misma que la de la cadena codificadora del gen (**figura 34-8**).

CASI TODAS LAS ESPECIES DE RNA ESTABLE, ABUNDANTE, PARTICIPAN EN ALGÚN ASPECTO DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA

Las moléculas de RNA citoplásmico que sirven como plantillas para la síntesis de proteína (es decir, que transfieren información genética desde el DNA hacia la maquinaria sintetizadora de proteína) se designan **RNA mensajeros**, o **mRNA**. Muchas otras moléculas de RNA citoplásmicas muy abundantes **(RNA ribosómicos**; **rRNA)** tienen funciones estructurales en donde contribuyen a la formación y función de ribosomas (la maquinaria en el ámbito de organelo para la síntesis de proteína) o sirven como moléculas adaptadoras **(RNA de transferencia; tRNA)** para la traducción de información del RNA hacia secuencias específicas de aminoácidos polimerizados.

Es interesante que algunas moléculas de RNA tienen actividad catabólica intrínseca. La actividad de estas **ribozimas** a menudo incluye la división de un ácido nucleico. Dos enzimas de RNA bien estudiadas, o ribozimas, son la peptidil transferasa

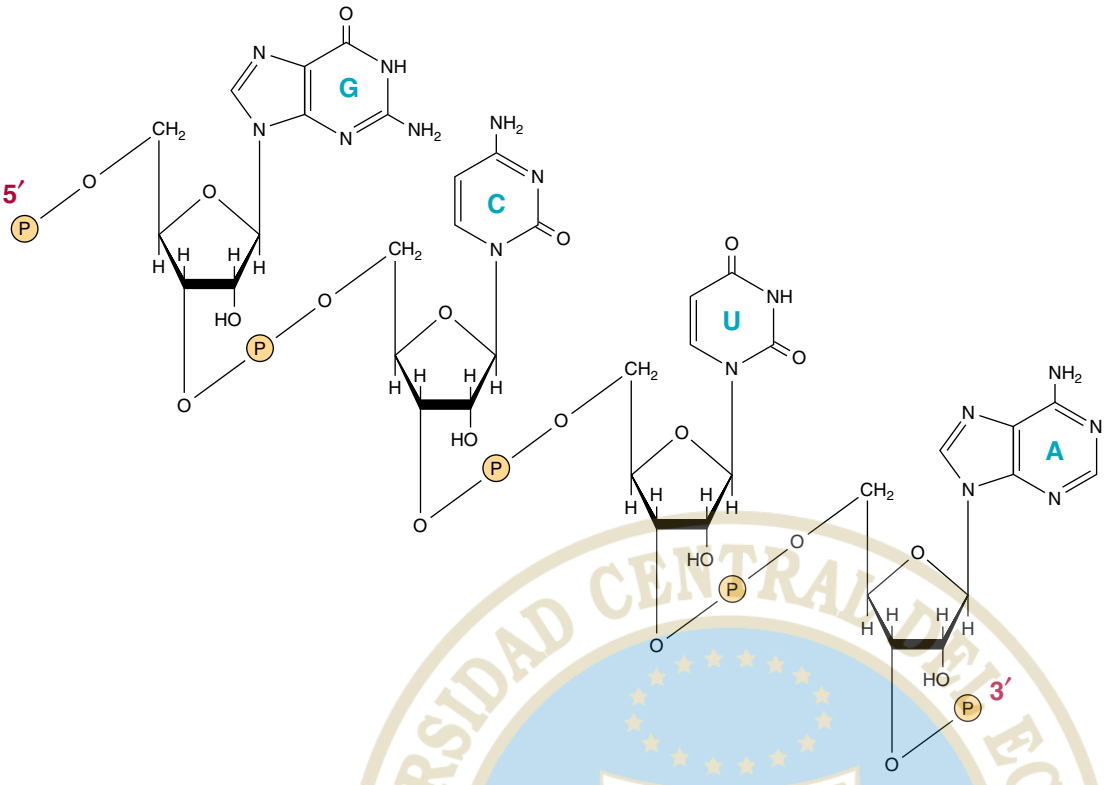


FIGURA 34-6 Un segmento de una molécula de ácido ribonucleico (RNA) en el cual las bases purina y pirimidina (guanina [G], citosina [C], uracilo [U] y adenina [A]) se mantienen juntas mediante enlaces fosfodiéster entre porciones ribosilo fijas a las nucleobases por medio de enlaces N-glucosídicos. Note que la(s) carga(s) negativa(s) del esqueleto fosfodiéster no están ilustradas (esto es, figura 34-1), y que el polímero tiene una polaridad según lo indican los fosfatos unidos a la posición 3′ y 5′ marcados.

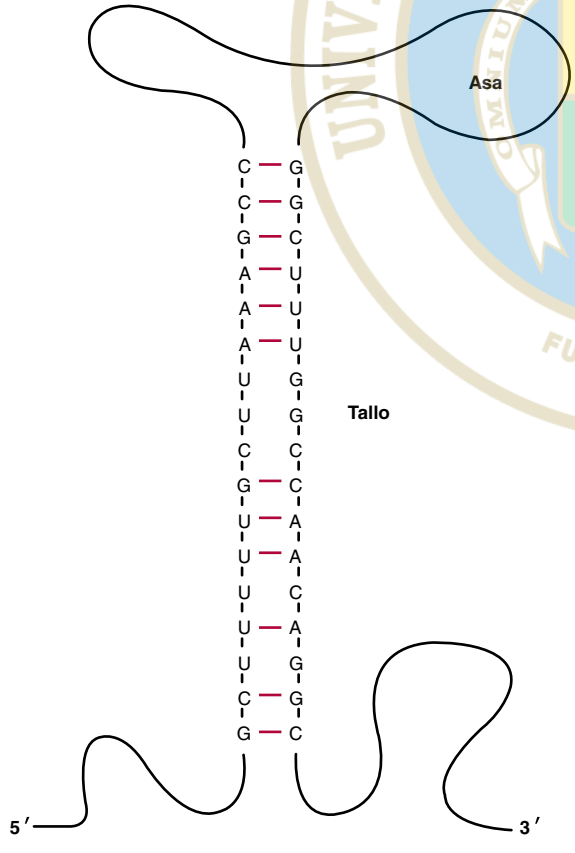


FIGURA 34-7 Diagrama que representa la estructura secundaria de una molécula de RNA de cadena única en la cual se ha formado un tallo con asa, u "horquilla". La formación de esta estructura depende de la formación intramolecular de pares de base indicada (líneas horizontales coloreadas entre las bases). Note que A forma enlaces de hidrógeno con U en el RNA.

que cataliza la formación de enlaces peptídicos en el ribosoma, y ribozimas comprendidas en el empalme del RNA.

En todas las células eucarióticas hay especies de **RNA nuclear pequeño (snRNA)** que no participan de modo directo en la síntesis de proteína pero desempeñan funciones cruciales en el procesamiento del RNA. El tamaño de estas moléculas relativamente pequeñas varía desde 90 hasta alrededor de 300 nucleótidos (**cuadro 34-1**). Las propiedades de las diversas clases de RNA celular se detallan más adelante.

El material genético para algunos virus de animales y vegetales es RNA en lugar de DNA. Aunque algunos virus RNA nunca transcriben su información hacia una molécula de DNA, muchos virus RNA de animales (en específico, los retrovirus [p. ej., el HIV]) se transcriben mediante **DNA polimerasa dependiente de RNA viral, la denominada transcriptasa inversa**, para producir una copia de DNA bicatenario de su genoma de RNA. En muchos casos, la transcripción de DNA de doble cadena resultante se integra en el genoma del huésped y después sirve como una plantilla para la expresión de gen a partir de la cual pueden transcribirse nuevos genomas de RNA viral y mRNA virales. La inserción genómica de esas moléculas de DNA "proviral" integradoras puede, dependiendo del sitio afectado, ser mutagénica, lo cual desactiva un gen o altera la regulación de su expresión (figura 35-11).

HAY VARIAS CLASES DE RNA

En todos los organismos procarióticos y eucarióticos, hay cuatro clases principales de moléculas de RNA: mensajero (mRNA), de transferencia (tRNA), ribosómico (rRNA), y RNA pequeños. Cada uno difiere de los otros en su abundancia, tamaño, función y estabilidad general.



FIGURA 34-8 La relación entre las secuencias de una transcripción de RNA y su gen, en la cual las cadenas codificadora y plantilla se muestran con sus polaridades. La transcripción de RNA con una polaridad 5′ a 3′ es complementaria a la cadena plantilla con su polaridad 3′ a 5′. Note que la secuencia en la transcripción de RNA y su polaridad es la misma que la que hay en la cadena codificadora, salvo porque la U de la transcripción reemplaza a la T del gen; el nucleótido iniciador de RNA contiene una terminal 5′-trifosfato (pppA arriba).

RNA mensajero (mRNA)

Esta clase es la de abundancia, tamaño y estabilidad más heterogéneos; por ejemplo, en la levadura de cerveza mRNA específicos están presentes en cientos/célula hasta, en promedio, ≤0.1 mRNA/célula en una población genéticamente homogénea. Mecanismos tanto transcripcionales como postranscripción específicos contribuyen a este rango dinámico grande en el contenido de mRNA (capítulos 36 y 38). En células de mamífero la abundancia de mRNA probablemente varía en un rango de 10^4 veces. Todos los miembros de la clase funcionan como mensajeros que transmiten la información en un gen hacia la maquinaria sintetizadora de proteína, donde cada mRNA sirve como una plantilla con base en la cual una secuencia específica de aminoácidos se polimeriza para formar una molécula de proteína específica, el producto final de gen (**figura 34-9**).

Los mRNA eucarióticos tienen características químicas singulares. La terminal 5′ del mRNA está "cubierta" por un 7-metilguanosina trifosfato que está enlazado a un 2′-*O*-metil ribonucleósido adyacente en su 5′-hidroxilo por medio de los tres fosfatos (**figura 34-10**). Las moléculas de mRNA suelen contener 6-metiladenilatos internos y otros nucleósidos 2′-*O*-ribosa metilados. La cubierta participa en el reconocimiento del mRNA por la maquinaria de traducción, y ayuda también a estabilizar el mRNA al evitar el ataque de 5′-exonucleasas. La maquinaria sintetizadora de proteína empieza a traducir el mRNA hacia proteínas empezando torrente abajo de la terminal 5′ o cubierta. El otro extremo de las moléculas de mRNA, el 3′-hidroxilo terminal, tiene un polímero fijo de residuos adenilato de 20 a 250 nucleótidos de longitud, no genéticamente codificado. La "cola" poli(A) en el 3′-hidroxilo terminal de mRNA mantiene la estabilidad intracelular del mRNA específico al impedir el ataque de 3′-exonucleasas y facilita también la traducción (figura 37-7). Algunos mRNA, incluso aquellos para algunas histonas, no contienen una cola poli(A). Tanto la "cubierta" como la "cola poli(A)" de mRNA se agregan luego de la transcripción por enzimas no dirigidas por plantilla a moléculas precursoras de mRNA (pre-mRNA). El mRNA representa 2 a 5% del RNA total de células eucarióticas.

En células de mamífero, incluso las de humanos, las moléculas de mRNA presentes en el citoplasma no son los productos del RNA inmediatamente sintetizados a partir de la plantilla de DNA, sino que deben formarse por procesamiento desde el pre-RNA antes de que entre al citoplasma. De esta manera, en núcleos de mamífero, los productos inmediatos de la transcripción de gen (transcripciones primarias) son muy heterogéneos y pueden ser más de 10 a 50 veces más largos que las moléculas de mRNA maduras. Como se considera en el capítulo 36, las moléculas de pre-mRNA se procesan para generar las moléculas de mRNA que después entran al citoplasma para servir como plantillas para la síntesis de proteína.

RNA de transferencia (tRNA)

La longitud de las moléculas de tRNA varía desde 74 hasta 95 nucleótidos, como ocurre con varios otros RNA también se

CUADRO 34-1 Algunas de las especies de RNA estables pequeños que se encuentran en células de mamífero

Nombre	Longitud (nucleótidos)	Moléculas por célula	Localización
U1	165	1×10^6	Nucleoplasma
U2	188	5×10^5	Nucleoplasma
U3	216	3×10^5	Nucleolo
U4	139	1×10^5	Nucleoplasma
U5	118	2×10^5	Nucleoplasma
U6	106	3×10^5	Gránulos pericromatina
4.5S	95	3×10^5	Núcleo y citoplasma
7SK	280	5×10^5	Núcleo y citoplasma

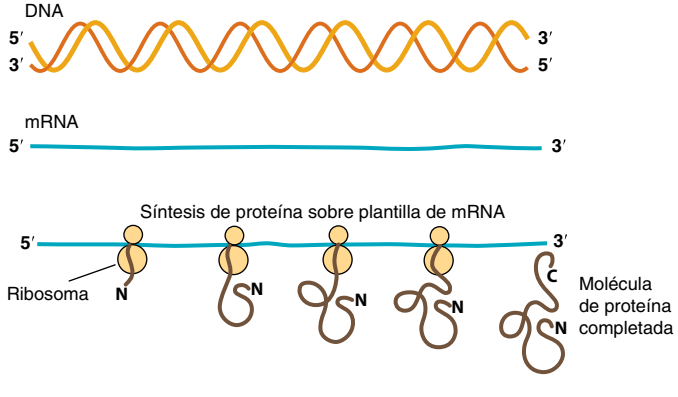


FIGURA 34-9 La expresión de información genética en el DNA hacia la forma de una transcripción de mRNA; se muestra la polaridad 5′ a 3′. Los ribosomas después traducen el mRNA hacia una molécula de proteína específica que también exhibe polaridad N terminal (**N**) a C terminal (**C**).

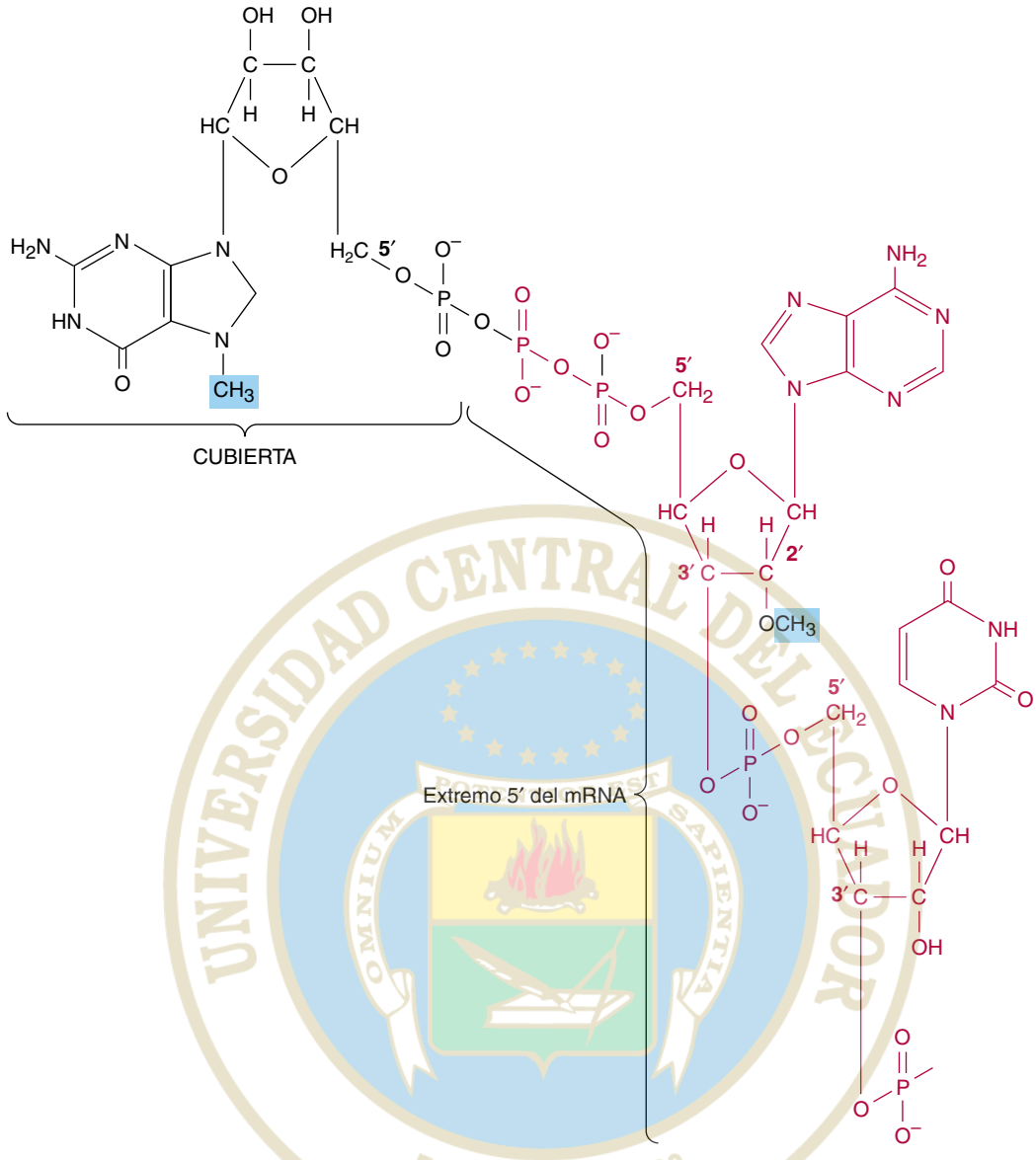


FIGURA 34-10 La estructura de cubierta unida a la terminal 5′ de casi todas las moléculas de RNA mensajero de eucariontes. Un trifosfato de 7-metilguanosina (negro) está unido en la terminal 5′ del mRNA (rojo), que por lo general también contiene un nucleótido 2′-*O*-metilpurina. Estas modificaciones (la cubierta y el grupo metilo) se añaden después de que el mRNA es transcrito a partir del DNA. Note que los fosfatos γ y β del GTP añadidos para formar la cubierta (negro en la figura) se pierden en el momento de la adición de la cubierta, mientras que el fosfato γ del nucleótido iniciador (aquí un residuo A; rojo en la figura) se pierde durante la adición de la cubierta.

generan por procesamiento nuclear de una molécula precursora (capítulo 36). Las moléculas de tRNA sirven como adaptadoras para la traducción de la información en la secuencia de nucleótidos del mRNA hacia aminoácidos específicos. Hay al menos 20 especies de moléculas de tRNA en cada célula, y por lo menos una (y a menudo varias) corresponde a cada uno de los 20 aminoácidos requeridos para la síntesis de proteína. Aun cuando cada tRNA específico difiere de los otros en su secuencia de nucleótidos, las moléculas de tRNA como clase tienen muchas características en común. La estructura primaria (es decir, la secuencia de nucleótido) de todas las moléculas de tRNA permite plegado y complementariedad intracadena extensos para generar una estructura secundaria que aparece en dos dimensiones como una hoja de trébol (**figura 34-11**).

Todas las moléculas de tRNA contienen cuatro brazos principales. El **brazo aceptor** termina en los nucleótidos CpCpAOH. Una enzima nucleotidil transferasa específica añade estos tres nucleótidos luego de la transcripción. El aminoácido apropiado para el tRNA se fija, o "carga" sobre el grupo 3′-OH de la porción A del brazo aceptor (figura 37-1). Los **brazos D**, **TψC** y **extra** ayudan a definir un tRNA específico. Los tRNA constituyen a grandes rasgos 20% del RNA celular total.

RNA ribosómico (rRNA)

Un ribosoma es una estructura nucleoproteínica citoplásmica que actúa como la maquinaria para la síntesis de proteínas a partir de las plantillas de mRNA. En los ribosomas, las moléculas de mRNA

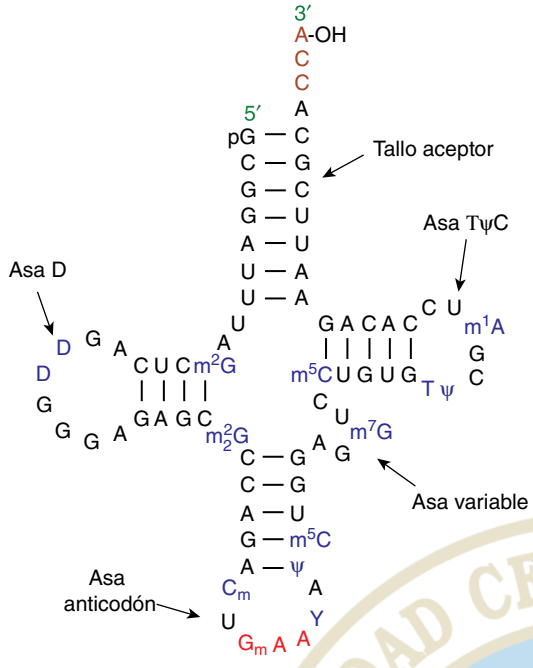


FIGURA 34-11 Representación lineal de un tRNA, fenilalanil-tRNA de levadura. Las líneas rectas representan enlaces de hidrógeno intramoleculares (A—U; G—C) entre bases. Las tres bases del asa anticodón se muestran en rojo. En un tRNA cargado una porción aminoacilo está fija a la terminal 3′-CCA_{OH} (marrón). La letra azul pone de relieve nucleótidos no tradicionales introducidos por modificación postraduccional, abreviados como sigue: m^2G = 2-metilguanosina; D = 5,6-dihidrouridina; $m^2{}_2G$ = N2-dimetilguanosina; C_m = O2′-metilcitidina; G_m = O2′-metilguanosina; T = 5-metiluridina; Y = wibutosina; φ = seudouridina; m^5C = 5-metilcitidina; m^7G = 7-metilguanosina; m^1A = 1-metiladenosina. Una figura de fuente abierta de Wikipedia.

y tRNA interactúan para traducir la información transcrita desde el gen durante la síntesis de mRNA hacia una proteína específica. Durante periodos de síntesis activa de proteína, muchos ribosomas pueden asociarse con cualquier molécula de mRNA para formar un montaje llamado el **polisoma** (figura 37-7).

En el **cuadro 34-2** se muestran los componentes del ribosoma de mamífero, que tiene un peso molecular de aproximadamente 4.2×10^6, y un coeficiente de velocidad de sedimentación de 80S (**S = unidades Svedberg**, un parámetro sensible al tamaño y la forma moleculares). El ribosoma de mamífero contiene dos subunidades nucleoproteínicas principales, una de mayor tamaño con un peso molecular de 2.8×10^6 (60S), y una subunidad de menor tamaño con un peso molecular de 1.4×10^6 (40S). La subunidad 60S contiene un RNA ribosómico (rRNA) 5S, un rRNA 5.8S, y un rRNA 28S; también hay más de 50 polipéptidos específicos. La subunidad 40S es de menor tamaño y contiene un rRNA 18S único, y alrededor de 30 cadenas polipeptídicas distintas. Todas las moléculas de RNA ribosómico, excepto el rRNA 5S, que se transcribe de modo independiente, se procesan a partir de una molécula de RNA precursora 45S única en el nucleolo (capítulo 36). Las moléculas de RNA ribosómico muy metiladas están aglomeradas en el nucleolo con las proteínas ribosómicas específicas. En el citoplasma, los ribosomas permanecen bastante estables y capaces de muchos ciclos de traducción. No se entienden por completo las funciones precisas de las moléculas de RNA ribosómico en la partícula ribosómica, pero se necesitan para el montaje ribosómico, y desempeñan también funciones clave en la unión de mRNA a ribosomas y su traducción. Estudios recientes indican que el componente de rRNA grande realiza la actividad de peptidil transferasa y, así, es una ribozima. Los RNA ribosómicos (28S + 18S) representan a grandes rasgos 70% del RNA celular total.

RNA pequeño

En las células eucarióticas se encuentra gran número de especies de RNA separadas, muy conservadas, y pequeñas; algunas son bastante estables. Casi todas estas moléculas forman complejos con proteínas para constituir ribonucleoproteínas, y están distribuidas en el núcleo, el citoplasma, o ambos. Su tamaño varía de 20 a 1 000 nucleótidos, y están presentes en 100 000 a 1 000 000 de copias por célula, lo que representa en conjunto ≤ 5% del RNA celular.

RNA nucleares pequeños (snRNA)

Los snRNA, un subgrupo de los RNA pequeños (cuadro 34-1), participan de manera importante en el procesamiento de rRNA y mRNA, y en la regulación de gen. De los varios snRNA, los U1, U2, U4, U5 y U6 participan en la eliminación de intrón y en el procesamiento de precursores de mRNA hacia mRNA (capítulo 36). El snRNA U7 participa en la producción de los extremos 3′ correctos del mRNA histona, que carece de una cola poli(A). El RNA 7SK se asocia con varias proteínas para formar un complejo de ribonucleoproteína, denominado P-TEFb, que modula el alargamiento de la transcripción de gen de mRNA por la RNA polimerasa II (capítulo 36).

CUADRO 34-2 Componentes de ribosomas de mamífero

	Proteína			RNA		
Componente	**Masa (MW)**	**Número**	**Masa**	**Tamaño**	**Masa**	**Bases**
Subunidad 40S	1.4×10^6	33	7×10^5	18S	7×10^5	1 900
Subunidad 60S	2.8×10^6	50	1×10^6	5S	3.5×10^4	120
				5.8S	4.5×10^4	160
				28S	1.6×10^6	4 700

Nota: las subunidades ribosómicas se definen de acuerdo con su velocidad de sedimentación en unidades Svedberg (**S**) (40S o 60S). Se listan el número de proteínas singulares y su masa total (MW) y los componentes RNA de cada subunidad en tamaño (unidades Svedberg), masa y número.

RNA reguladores no codificantes grandes y pequeños: micro-RNA (miRNA), RNA silenciadores (siRNA) y RNA no codificantes largos (lncRNA)

Uno de los descubrimientos más interesantes y no anticipados durante la última década de la biología reguladora eucarionte ha sido la identificación y caracterización de RNA no codificantes de proteína reguladores (ncRNA). Los ncRNA existen en dos clases de tamaño generales: grandes (50 a 1 000 nt) y pequeños (20 a 22 nt). Los ncRNA reguladores se han descrito en casi todos los eucariontes (capítulo 38).

Los **ncRNA pequeños denominados miRNA y siRNA típicamente inhiben la expresión de gen** en el ámbito de producción de proteína específica al establecer como objetivo mRNA por medio de uno de varios mecanismos separados. Los miRNA se generan mediante procesamiento nucleolítico específico de los productos de distintos genes/unidades de transcripción (figura 36-17). Los precursores de miRNA, que tienen cubierta 5′ y están 3′ poliadenilados, por lo general varían de tamaño desde alrededor de 500 hasta 1 000 nucleótidos.

En contraste, los siRNA son generados mediante el procesamiento nucleolítico específico de dsRNA grandes que se producen a partir de otros RNA endógenos, o de dsRNA introducidos a la célula por, por ejemplo, virus RNA. Tanto los **siRNA como los miRNA típicamente se hibridan, mediante la formación de hibridación RNA-RNA a sus mRNA establecidos como objetivo** (figura 38-19). Hasta la fecha, se han descrito cientos de miRNA y siRNA distintos en humanos; los estimados sugieren que hay ~ 1 000 genes que codifican para miRNA de humano. Dada su especificidad genética extrema, tanto los miRNA como los siRNA representan interesantes nuevos **agentes potenciales para desarrollo de fármacos terapéuticos**. Los siRNA frecuentemente se usan para disminuir o "*knock-down*" concentraciones de proteínas específicas (por medio de degradación de mRNA dirigida por homología de siRNA) en contextos experimentales en el laboratorio, una alternativa en extremo útil y potente para la tecnología de deleción (*knockout*) de gen (capítulo 9). De hecho, varios estudios clínicos terapéuticos basados en siRNA se encuentran en curso para probar la eficacia de estas moléculas nuevas como fármacos para el tratamiento de enfermedades de humanos.

Otro descubrimiento reciente e interesante en el campo del RNA es la identificación y caracterización de **RNA no codificadores**, o **ncRNA**, **largos**. El tamaño de los ncRNA largos que, como su nombre lo indica, no codifican para proteína, varía desde ~ 300 hasta miles de nucleótidos de largo; estos RNA típicamente se transcriben a partir de las regiones grandes de genomas eucariontes que no codifican para proteína (es decir, los genes codificadores mRNA). De hecho, el análisis del transcriptoma indica que **> 90% del DNA genómico eucarionte es transcrito**. Los ncRNA constituyen una porción importante de esta transcripción. Los ncRNA desempeñan muchos papeles que varían desde contribuir a los aspectos estructurales de la cromatina, hasta la regulación de la transcripción de gen que codifica para mRNA por la RNA polimerasa II. Investigación futura sin duda caracterizará con más detalle esta importante nueva clase de moléculas de RNA.

Despierta interés que las bacterias también contienen RNA reguladores heterogéneos pequeños denominados sRNA. El tamaño de los sRNA bacterianos varía desde 50 hasta 500 nucleótidos, y al igual que los mi/si/IncRNA eucarióticos también controlan una gama grande de genes. De modo similar, los sRNA a menudo reprimen, pero en ocasiones activan, la síntesis de proteína al unirse a mRNA específico.

NUCLEASAS ESPECÍFICAS DIGIEREN ÁCIDOS NUCLEICOS

Durante muchos años se han reconocido enzimas que tienen la capacidad de degradar ácidos nucleicos; tales nucleasas pueden clasificarse de varias maneras. Las que muestran especificidad por el DNA reciben el nombre de **desoxirribonucleasas**. Las nucleasas que hidrolizan de modo específico RNA son las **ribonucleasas**. Algunas nucleasas degradan tanto el DNA como el RNA. Dentro de estas clases hay enzimas que tienen la capacidad de dividir enlaces fosfodiéster internos para producir terminales 3′-hidroxilo y 5′-fosforilo, o terminales 5′-hidroxilo y 3′-fosforilo, las cuales se denominan **endonucleasas**. Algunas tienen la capacidad de hidrolizar ambas cadenas de una molécula **bicatenaria**, mientras que otras únicamente pueden dividir **cadenas únicas** de ácidos nucleicos. Algunas nucleasas sólo pueden hidrolizar cadenas únicas no pareadas, mientras que otras son capaces de hidrolizar cadenas únicas que participan en la formación de una molécula bicatenaria. Hay clases de endonucleasas que reconocen secuencias específicas en el DNA; casi todas éstas son las **endonucleasas de restricción,** que son instrumentos importantes en genética molecular y ciencias médicas. El cuadro 39-2 presenta una lista de algunas de las endonucleasas de restricción reconocidas en la actualidad.

Ciertas nucleasas tienen la capacidad de hidrolizar un nucleótido únicamente cuando está presente en una terminal de una molécula; éstas se llaman **exonucleasas,** y sólo actúan en una dirección (3′ → 5′ o 5′ → 3′). En bacterias, una exonucleasa 3′→ 5′ es una parte integral de la maquinaria de replicación de DNA, y ahí sirve para editar (o corregir pruebas) del desoxinucleótido añadido más recientemente respecto a errores de la formación de pares de bases.

RESUMEN

- El DNA consta de cuatro bases (A, G, C y T) que se mantienen en disposición lineal mediante enlaces fosfodiéster a través de las posiciones 3′ y 5′ de porciones desoxirribosa adyacentes.
- El DNA se organiza en dos cadenas por medio de la formación de pares de bases A a T y G a C en cadenas complementarias. Estas cadenas forman una doble hélice alrededor de un eje central.
- Los 3×10^9 pares de bases del DNA en humanos están organizados hacia el complemento haploide de 23 cromosomas. La secuencia exacta de estos 3 000 000 000 de nucleótidos define la singularidad de cada individuo.
- El DNA proporciona una plantilla para su propia replicación y, así, mantenimiento del genotipo, y para la transcripción de los aproximadamente 25 000 genes del humano que codifican para proteínas, así como una gama grande de RNA reguladores no codificadores de proteína.

- El RNA existe en varias estructuras monocatenarias diferentes, la mayor parte de las cuales participa de modo directo o indirecto en la síntesis de proteína o en su regulación. La disposición lineal de nucleótidos en el RNA consta de A, G, C y U, y la parte azúcar es ribosa.
- Las principales formas de RNA son el mensajero (mRNA), ribosómico (rRNA), de transferencia (tRNA), RNA nucleares pequeños (snRNA) y reguladores(ncRNA). Ciertas moléculas de RNA actúan como catalíticos (ribozimas).

REFERENCIAS

Dunkle JA, Cate JH: Ribosome structure and dynamics during translation. Annu Rev Biophys 2010;39:227-244.

Green R, Noller HF: Ribosomes and translation. Annu Rev Biochem 1997;66:689-716.

Guthrie C, Patterson B: Spliceosomal snRNAs. Ann Rev Genet 1988;22:387-419.

Han J, Xiong J, Wang D, Fu XD: Pre-mRNA splicing: where and when in the nucleus. Trends Cell Biol 2011;21:336-343.

Keene JD: Minireview: global regulation and dynamics of ribonucleic acid. Endocrinology 2010;151:1391-1397.

Moore M: From birth to death: the complex lives of eukaryotic mRNAs. Science 2005;309:1514-1518.

Moore PB: How should we think about the ribosome? Annu Rev Biophys 2012;41:1-19.

Narla A, Ebert BL: Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. Blood 2010;115:3196-3205.

Phizicky EM, Hopper AK: tRNA biology charges to the front. Genes Dev 2010;24:1832-1860.

Skalsky RL, Cullen BR: Viruses, microRNAs, and host interactions. Annu Rev Microbiol 2010;64:123-141.

Teng T, Thomas G, Mercer CA: Growth control and ribosomopathies. Curr Opin Genet Dev 2013;63-71.

Wang G-S, Cooper TA: Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery. Nature Rev Genetics 2007;8:749.

Watson JD, Crick FH: Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 1953;171:737-738.

Yang L, Froberg JE, Lee JT: Long noncoding RNAs: fresh perspectives into the RNA world. Trends Biochem Sci 2014; 39:35-43.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO

35

Organización, replicación y reparación del DNA

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar que aproximadamente 3×10^9 pares de bases de DNA que componen el genoma haploide de humanos están divididos de manera singular entre 23 unidades de DNA lineales, los cromosomas. Los humanos, al ser diploides, tienen 23 pares de cromosomas: 22 autosomas y dos cromosomas sexuales.
- Entender que el DNA genómico del humano, si se extiende de un extremo a otro, mediría metros de longitud; aun así, cabe dentro del núcleo de la célula, un orgánulo de sólo micrómetros (μm; 10^{-6} m) de diámetro. Esa condensación de la longitud del DNA es inducida siguiendo su asociación con las proteínas histona con carga altamente positiva que da lugar a la formación de un complejo de DNA-histona singular llamado el nucleosoma. Los nucleosomas tienen DNA envuelto alrededor de la superficie de un octámero de histonas.
- Explicar que las cadenas de nucleosomas se forman a lo largo de la secuencia lineal de DNA genómico para formar cromatina, que por sí misma puede estar más estrechamente aglomerada y condensada, lo que finalmente lleva a la formación de los cromosomas.
- Comprender que si bien los cromosomas son las unidades funcionales macroscópicas para la recombinación del DNA, la clasificación de gen y la división celular, es la función del DNA en el ámbito de los nucleótidos individuales lo que compone las secuencias reguladoras enlazadas con genes específicos que son esenciales para la vida.
- Explicar los pasos, la fase del ciclo celular, y las moléculas de las cuales dependen la replicación, la reparación y la recombinación del DNA, y entender los efectos negativos de los errores en cualquiera de estos procesos sobre la integridad y la salud de la célula y del organismo.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

La información genética en el DNA de un cromosoma puede transmitirse por medio de replicación precisa, o se puede intercambiar mediante diversos procesos, entre ellos entrecruzamiento, recombinación, transposición y conversión. Éstos proporcionan un medio para asegurar la adaptabilidad y diversidad para el organismo pero, cuando estos procesos salen mal, también pueden dar por resultado enfermedad. Varios sistemas enzimáticos participan en la replicación, alteración y reparación del DNA. Las mutaciones se deben a un cambio de la secuencia de bases de DNA, y en ocasiones dependen de defectos de la replicación, el movimiento o la reparación del DNA, y ocurren con una frecuencia de alrededor de una en cada 10^6 divisiones celulares. A veces, las anormalidades en productos de gen (sea en el RNA, la función de proteína, o la cantidad) son el resultado de mutaciones que suceden en DNA codificador o de región reguladora. Una mutación en una célula germinal se transmite hacia la descendencia (la denominada transmisión vertical de enfermedad hereditaria). Diversos factores, entre ellos virus, sustancias químicas, luz ultravioleta y radiación ionizante, aumentan el

* Hasta donde es posible, la exposición en este capítulo y los capítulos 36, 37 y 38 se referirá a organismos mamíferos que figuran, por supuesto, entre los eucariotas superiores. En ocasiones será necesario hacer referencia a observaciones en organismos procarióticos, como bacterias y virus, o sistemas de modelo eucariótico inferior, como *Drosophila*, *C. elegans* o levadura; sin embargo, en esos casos la información que se presenta puede extrapolarse a organismos mamíferos.

índice de mutación. Las mutaciones suelen afectar células somáticas y, así, se transmiten hacia generaciones sucesivas de células, pero sólo dentro de un organismo (es decir, de modo horizontal). Cada vez es más claro que varias enfermedades (y tal vez casi todos los cánceres) se deben a los efectos combinados de la transmisión vertical de mutaciones, así como a la transmisión horizontal de mutaciones inducidas.

LA CROMATINA ES EL MATERIAL CROMOSÓMICO EN LOS NÚCLEOS DE CÉLULAS DE ORGANISMOS EUCARIÓTICOS

La cromatina consta de **moléculas de DNA** bicatenario muy largas **(dsDNA)**, y una masa casi igual de proteínas básicas más bien pequeñas llamadas **histonas**, así como una cantidad menor de **proteínas no histona** (la mayor parte de las cuales son ácidas y de mayor tamaño que las histonas), y una pequeña cantidad de **RNA**. Las proteínas no histona incluyen enzimas involucradas en la replicación y reparación del DNA, y las proteínas participantes en la síntesis, el procesamiento y el transporte hacia el citoplasma, del RNA. La hélice del dsDNA en cada cromosoma tiene una longitud que es miles de veces el diámetro del núcleo de la célula. Un propósito de las moléculas que comprenden la cromatina, en especial las histonas, es condensar el DNA. Sin embargo, es importante notar que las histonas también tienen una participación fundamental en la regulación de gen (capítulos 36, 38 y 42), en efecto, las histonas contribuyen de manera importante a todas las transacciones moleculares dirigidas a DNA. En estudios de microscopia electrónica de cromatina se han demostrado partículas esféricas densas denominadas **nucleosomas**, que tienen alrededor de 10 nm de diámetro y están conectadas por medio de filamentos de DNA (**figura 35-1**). Los nucleosomas están compuestos de DNA envuelto alrededor de un conjunto de moléculas de histona.

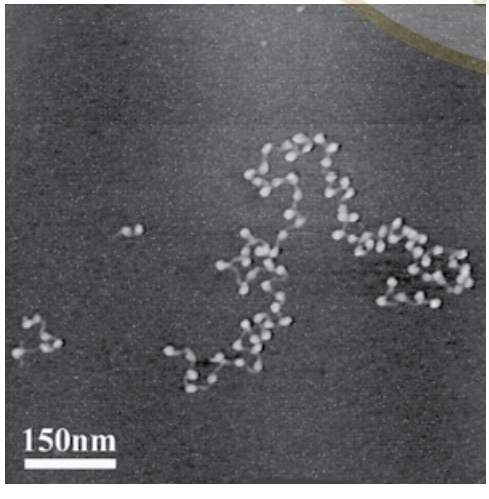


FIGURA 35-1 **Micrografía electrónica de nucleosomas (esféricos, de color blanco) fijos a cadenas de DNA (línea gris delgada); véase la figura 35-2.** (Reproducido, con autorización, de Shao Z. Probing nanometer structures with atomic force microscopy. News Physiol Sci, 1999;14:142-149. Cortesía del profesor Zhifeng Shao, University of Virginia).

Las histonas son las proteínas de cromatina más abundantes

Las histonas son una familia pequeña de proteínas básicas estrechamente relacionadas. Las **histonas H1** son las que están menos estrechamente unidas a la cromatina (**figuras 35-1, 35-2** y **35-3**) y, en consecuencia, se eliminan con facilidad con una solución salina, tras lo cual la cromatina se hace más soluble. La unidad organizacional de esta cromatina soluble es el nucleosoma. **Los nucleosomas contienen cuatro tipos de histonas: H2A, H2B, H3** y **H4** (las llamadas histonas centrales que forman el nucleosoma) cuya estructura se ha conservado mucho entre las especies, aunque existen variantes de las histonas y se han usado para propósitos especializados. Esta conservación extrema indica que la función de las histonas es idéntica en todos los eucariotas y que toda la molécula participa de manera bastante específica en esta función. Los dos tercios carboxilo terminal de las moléculas de histona son hidrofóbicos, mientras que sus tercios amino terminal son en particular ricos en aminoácidos básicos. **Estas cuatro histonas centrales están sujetas a por lo menos seis tipos de modificación covalente de modificaciones postraduccionales (PTM)**: acetilación, metilación, fosforilación, ADP-ribosilación, monoubiquitilación y sumoilación. Estas modificaciones de histonas tienen importancia en la estructura y la función de la cromatina (**cuadro 35-1**).

Las histonas interactúan entre sí de modos muy específicos. **H3 y H4 forman un tetrámero** que contiene dos moléculas de cada una $(H3\text{-}H4)_2$, mientras que **H2A y H2B forman dímeros** (H2A-H2B). En condiciones fisiológicas, estos oligómeros de histona se asocian para formar el **octámero de histonas** de la composición $(H3\text{-}H4)_2\text{-}(H2A\text{-}H2B)_2$.

El nucleosoma contiene histona y DNA

Cuando el octámero de histonas se mezcla con dsDNA en condiciones iónicas apropiadas, se forma el mismo modelo de difracción de rayos X que el que se observa en cromatina recién

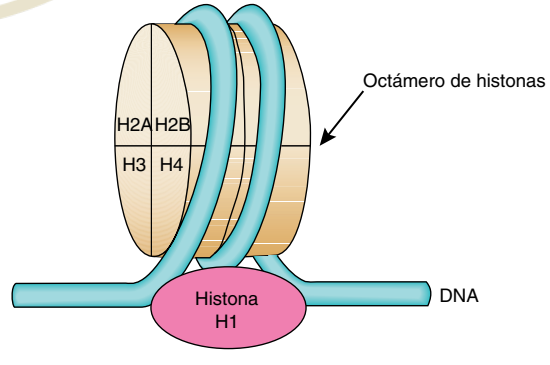


FIGURA 35-2 **Modelo para la estructura del nucleosoma, en el cual el DNA está envuelto alrededor de la superficie de un cilindro proteínico plano que consta de dos de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 que forman el octámero de histonas.** Los ~145 pares de bases (bp) de DNA, que constan de 1.75 vueltas superhelicoidales, están en contacto con el octámero de histona. El óvalo punteado en la parte inferior de la figura indica la posición de la histona H1, cuando está presente. La histona H1 interactúa con DNA conforme entra y sale del nucleosoma.

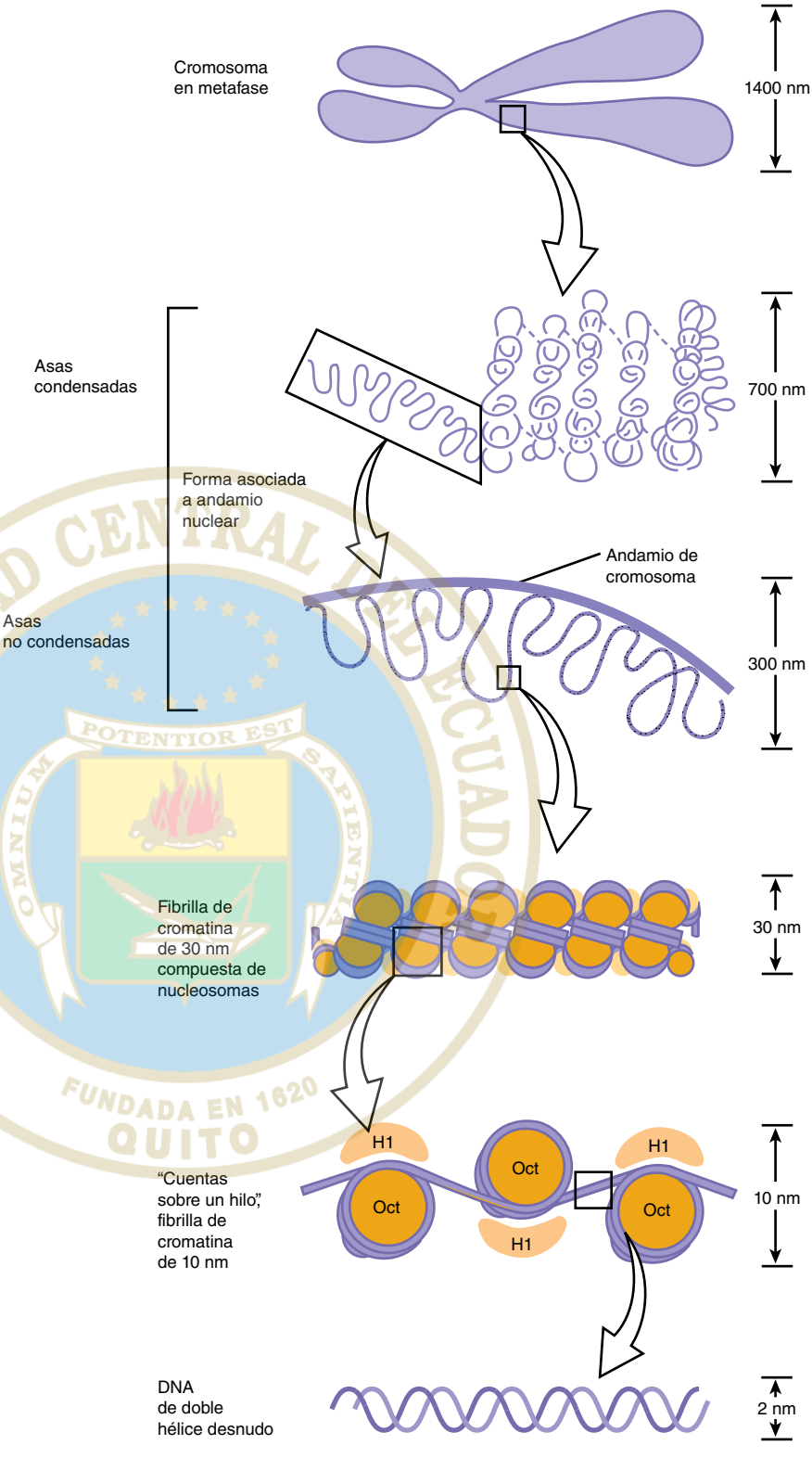


FIGURA 35-3 Se muestra la extensión de la aglomeración de DNA en cromosomas en metafase (arriba) a DNA dúplex desnudo (abajo). El DNA cromosómico está aglomerado y organizado en varios niveles como se muestra (cuadro 35-2). Cada fase de condensación o compactación y organización (de abajo a arriba) disminuye la accesibilidad general del DNA hasta un grado en que las secuencias de DNA en cromosomas en metafase son casi por completo inertes desde el punto de vista transcripcional. En total estos cinco niveles de compactación del DNA suscitan una disminución lineal de 10^4 veces de la longitud de un extremo a otro del DNA. La condensación y descondensación completas del DNA lineal en cromosomas ocurren en horas en el transcurso del ciclo celular replicativo normal (figura 35-20).

aislada. Estudios de bioquímica y microscopia electrónica confirman la existencia de nucleosomas reconstituidos. Además, la reconstitución de nucleosomas a partir del DNA e histonas H2A, H2B, H3 y H4 es independiente del origen de organismo o celular de los diversos componentes. Ni la histona H1 ni las proteínas no histona se requieren para la reconstitución del centro del nucleosoma.

En el nucleosoma, el DNA está superenrollado en una hélice siniestra sobre la superficie del octámero de histonas en forma de disco (figura 35-2). Casi todas las proteínas histona centrales interactúan con el DNA en el interior de la superhélice sin sobresalir, aun cuando las colas amino terminal de todas las histonas probablemente se extienden fuera de esta estructura y están disponibles para modificaciones covalentes reguladoras (cuadro 35-1).

CUADRO 35-1 Posibles funciones de histonas modificadas

1.	La acetilación de histonas H3 y H4 se relaciona con la activación o desactivación de la transcripción de gen
2.	La acetilación de histonas centrales muestra vínculo con montaje cromosómico durante la replicación de DNA
3.	La fosforilación de histona H1 se relaciona con la condensación de cromosomas durante el ciclo de replicación
4.	La ADP-ribosilación de histonas muestra vínculo con reparación de DNA
5.	La metilación de histonas se correlaciona con activación y represión de la transcripción de gen
6.	La monoubiquitilación se relaciona con activación de gen, represión y silenciamiento de gen heterocromático
7.	La sumoilación de histonas (SUMO; modificador vinculado con ubiquitina pequeño) se relaciona con represión de la transcripción

El tetrámero $(H3\text{-}H4)_2$ en sí puede conferir propiedades parecidas a nucleosoma sobre el DNA y, de esta manera, tiene una función fundamental en la formación del nucleosoma. La adición de dos dímeros H2A-H2B estabiliza la partícula primaria y une firmemente dos medias vueltas adicionales de DNA previamente unidas sólo de modo laxo al $(H3\text{-}H4)_2$. De esta manera, 1.75 giros de superhélice de DNA están envueltos alrededor de la superficie del octámero de histonas, lo que protege 145-150 pares de bases de DNA y forma la partícula central del nucleosoma (figura 35-2). En la cromatina, **las partículas centrales están separadas por una región de DNA de alrededor de 30 bp denominada "enlazador"**. La mayor parte del DNA está en una serie repetitiva de estas estructuras, lo que da el llamado aspecto en "cuentas sobre un hilo" en la microscopia electrónica (figura 35-1).

El montaje *in vivo* de nucleosomas está mediado por uno de varios factores de montaje de cromatina nucleares facilitados por chaperones de histona, un grupo de proteínas que muestran unión de alta afinidad a histona. Conforme el nucleosoma se monta, las histonas se liberan de los chaperones de histona. Los nucleosomas muestran preferencia por ciertas regiones sobre moléculas de DNA específicas, pero la base de esta distribución no al azar, denominada **ajuste de fase**, aún no se entiende por completo. El ajuste de fase probablemente se relaciona con la flexibilidad física relativa de ciertas secuencias de nucleótido que tienen la capacidad para dar cabida a las regiones de acodamiento dentro de la superhélice, así como con la presencia de otros factores unidos a DNA que limitan los sitios de depósito de nucleosoma.

ESTRUCTURAS DE ORDEN SUPERIOR MANTIENEN COMPACTADA LA CROMATINA

La microscopia electrónica de la cromatina revela dos órdenes de estructura superiores —la fibrilla de 10 nm y la fibra de cromatina de 30 nm— más allá que la del nucleosoma mismo. La estructura del nucleosoma parecida a disco tiene 10 nm de diámetro y 5 nm de altura. La **fibrilla de 10 nm** consta de nucleosomas dispuestos con sus bordes separados por una distancia pequeña (30 bp de DNA) con sus caras planas paralelas al eje de la fibrilla (figura 35-3). La fibrilla de 10 nm probablemente está más superenrollada con 6 o 7 nucleosomas por cada vuelta, para formar la **fibra de cromatina de 30 nm** (figura 35-3). Cada giro de la superhélice es relativamente plano y las caras de los nucleosomas de vueltas sucesivas serían casi paralelas entre sí. Las histonas H1 parecen estabilizar la fibra de 30 nm, pero no están claras su posición ni la del DNA espaciador de longitud variable. Es probable que los nucleosomas puedan formar diversas estructuras aglomeradas. Para formar un cromosoma mitótico, la fibra de 30 nm debe compactarse en longitud otras 100 veces (véase más adelante).

En los **cromosomas en interfase**, las fibras de cromatina parecen estar organizadas hacia **asas o dominios** de 30 000 a 100 000 bp anclados en andamiaje (o matriz de sostén) dentro del núcleo, la llamada **matriz nuclear**. Dentro de estos dominios, algunas secuencias de DNA pueden estar ubicadas de modo no al azar. Se ha sugerido que cada dominio de cromatina en asa corresponde a una o más funciones genéticas separadas, que contienen regiones tanto codificadoras como no codificadoras del gen o los genes cognados. Esta estructura nuclear probablemente es dinámica y tiene importantes efectos sobre la regulación de gen. Datos recientes sugieren que ciertos genes o regiones de gen son móviles dentro del núcleo y que se mueven en forma obligatoria hacia *loci* separados dentro del núcleo en el momento de la activación. Investigación adicional determinará si éste es un fenómeno general, y de cuáles mecanismos moleculares depende.

ALGUNAS REGIONES DE LA CROMATINA SON "ACTIVAS" Y OTRAS SON "INACTIVAS"

En general, cada célula de un organismo metazoario individual contiene la misma información genética. Así, las diferencias entre los tipos de célula dentro de un organismo deben explicarse por expresión diferencial de la información genética común. Se ha mostrado que la cromatina que contiene genes activos (esto es, cromatina activa desde el punto de vista transcripcional, o en potencia activa desde dicho punto de vista) difiere en varios aspectos de la de regiones inactivas. La estructura de nucleosoma de la cromatina activa parece estar alterada, a veces de manera bastante extensa, en regiones muy activas. El DNA en cromatina activa contiene regiones grandes (de alrededor de 100 000 bases de largo) que son relativamente más **sensibles a la digestión por una nucleasa** como la DNasa I; esta última hace cortes de cadena única en casi cualquier segmento del DNA (es decir, especificidad baja de secuencia). Digerirá DNA que no está protegido, o unido a proteína, hacia los desoxinucleótidos que lo componen. La sensibilidad a DNasa I de regiones de cromatina activas refleja sólo un potencial para transcripción más que transcripción en sí y en varios sistemas puede correlacionarse con una falta relativa de la 5-metildesoxicitidina (meC) en el DNA y modificaciones covalentes de la histona particular o PTM (fosforilación, acetilación, etc.; cuadro 35-1).

Dentro de las regiones grandes de cromatina activa hay tramos más cortos, de 100 a 300 nucleótidos, que muestran una sensibilidad aún mayor (otras 10 veces) a la de DNasa I. Estos **sitios hipersensibles** probablemente se producen por una conformación estructural que favorece el acceso de la nucleasa al DNA; dichas regiones a menudo están localizadas justo torrente arriba del gen activo, y son la ubicación de estructura nucleosómica interrumpida por la unión de proteínas factor de transcripción reguladoras no histona (proteínas que aumentan la unión del activador transcripcional; capítulos 36 y 38). En muchos casos, parece ser que si un gen tiene la capacidad de ser transcrito, muy a menudo tiene uno o varios sitios hipersensibles a DNasa en la cromatina justo torrente arriba. Como se mencionó, las proteínas reguladoras no histona involucradas en el control de la transcripción y las comprendidas en mantener acceso a la cadena plantilla conducen a la formación de sitios hipersensibles. Esos sitios a menudo proporcionan el primer indicio respecto a la presencia y ubicación de un elemento de control de transcripción.

En contraste, la cromatina inactiva en el aspecto transcripcional está densamente aglomerada durante la interfaz, como se observa mediante estudios con microscopia electrónica, y se denomina **heterocromatina**; la cromatina activa desde el punto de vista transcripcional se colorea menos densamente, y se llama **eucromatina**. En general, la eucromatina se replica antes que la heterocromatina en el ciclo de células de mamífero (véase más adelante). La cromatina en estas regiones de inactividad suele tener contenido alto de meC, y las histonas allí contienen relativamente niveles menores de ciertas modificaciones covalentes "activadoras" y altos niveles de PTM histona "represores".

Hay dos tipos de heterocromatina: constitutiva y facultativa. La **heterocromatina constitutiva** siempre está condensada y, de este modo, es en esencia inactiva. Se encuentra en las regiones cercanas al centrómero cromosómico y en terminaciones cromosómicas (telómeros). La **heterocromatina facultativa** en ocasiones está condensada, pero en otras ocasiones se transcribe de manera activa y, así, está no condensada y aparece como eucromatina. De los dos miembros del par de cromosomas X en hembras de mamífero, un cromosoma X es casi por completo inactivo en el aspecto transcripcional, y es heterocromático. Empero, el cromosoma X heterocromático se descondensa en el transcurso de la gametogénesis y se torna activo desde el punto de vista transcripcional durante la embriogénesis temprana; de este modo, es heterocromatina facultativa.

Ciertas células de insectos, por ejemplo, *Chironomus* y *Drosophila*, contienen cromosomas gigantes que se han replicado durante múltiples ciclos sin separación de cromátides hijas. Estas copias de DNA se alinean lado a lado en el registro exacto, y producen un cromosoma con bandas que contiene regiones de cromatina condensada y bandas más claras de cromatina más extendida. Las regiones activas en el aspecto transcripcional de estos **cromosomas politeno** se descondensan en especial hacia "**abultamientos**" *("puffs")* que puede mostrarse que contienen las enzimas de las cuales depende la transcripción, y que son los sitios de síntesis de RNA (**figura 35-4**). Al usar sondas de hibridación marcadas con fluorescencia, muy sensibles, es posible "mapear" secuencias de gen específicas, o "pintarlas", dentro de los núcleos de células de humano, incluso sin formación del cromosoma politeno, usando técnicas de FISH (hibridación *in situ* fluorescente; capítulo 39).

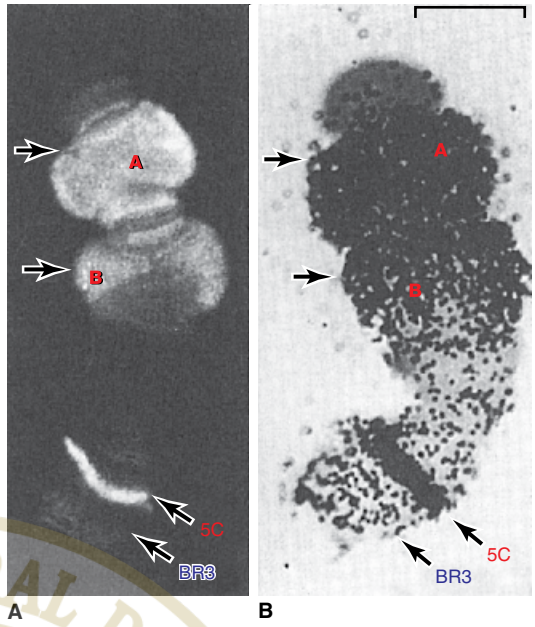


FIGURA 35-4 Ilustración de la estrecha correlación entre la presencia de RNA polimerasa II (cuadro 36-2) y la síntesis de RNA mensajero. Varios genes, marcados como A, B (arriba) y 5C, no así los genes en el *locus* (la banda) BR3 (5C, BR3, abajo) se activan cuando larvas de *Chironomus tentans* quedan sujetas a choque por calor (39 °C durante 30 min). **(A)** Distribución de la RNA polimerasa II en el cromosoma IV aislado de la glándula salival (**en las flechas**). La enzima se detectó por medio de inmunofluorescencia usando un anticuerpo dirigido contra la polimerasa. El 5C y BR3 son bandas específicas del cromosoma IV, y las flechas indican los abultamientos. **(B)** Autorradiograma de un cromosoma IV que se incubó en ^{3}H-uridina para marcar el RNA. Note la correspondencia de la inmunofluorescencia y la presencia de RNA radiactivo (puntos negros). Barra = 7 µm. (Reproducido, con autorización, de Sass H: RNA polymerase B in polytene chromosomes. Cell 1982;28:274. Copyright ©1982. Reimpreso con autorización de Elsevier).

EL DNA ESTÁ ORGANIZADO EN CROMOSOMAS

En el transcurso de la metafase, los **cromosomas** de mamífero poseen una simetría doble, con las **cromátides hermanas** duplicadas idénticas conectadas en un **centrómero**, cuya posición relativa es característica para un cromosoma dado (**figura 35-5**). El centrómero es una región rica en adenina-timina (A—T) que contiene secuencias de DNA repetidas que varían en tamaño desde 10^2 (levadura de cerveza) hasta 10^6 (mamíferos) pares de bases (bp). Los centrómeros de metazoario están unidos por nucleosomas que contienen la proteína variante histona H3 CENP-A y otras proteínas de unión a centrómero específicas. Este complejo, denominado el **cinetócoro**, proporciona la fijación para el huso mitótico. De esta manera, es una estructura esencial para la segregación cromosómica durante la mitosis.

Los extremos de cada cromosoma contienen estructuras llamadas **telómeros, que constan de repeticiones ricas en TG cortas**. En humanos, los telómeros tienen un número variable de repeticiones de la secuencia 5′-TTAGGG-3′, que puede extenderse por varias kilobases. La **telomerasa**, un complejo que contiene plantillas de RNA de múltiples subunidades vinculado con DNA polimerasas dependientes de RNA virales (transcriptasas inversas), es la enzima que se encarga de la síntesis de telómero

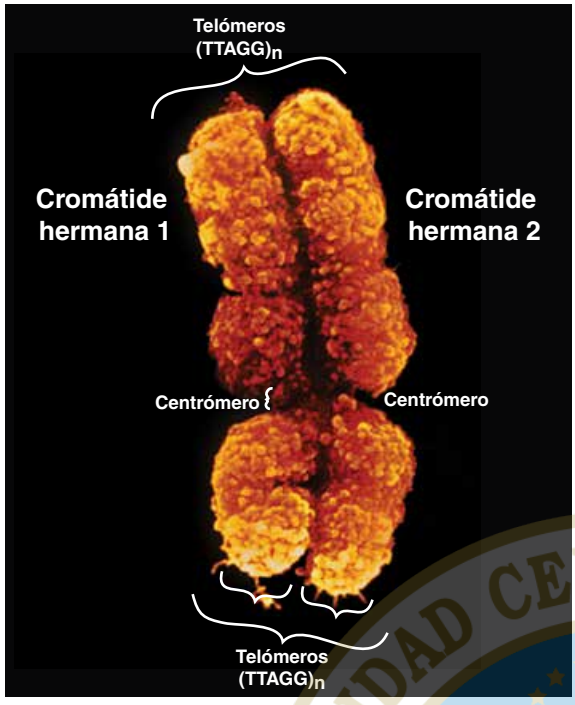


FIGURA 35-5 Las dos cromátides hermanas del cromosoma 12 de humano. La localización de la región centromérica rica en A+T que conecta las cromátides hermanas está indicada, al igual que dos de los cuatro telómeros que residen en los extremos mismos de las cromátides que están fijas una a la otra en el centrómero. (Reimpreso con permiso de Biophoto Associates/Photo Researchers, Inc).

y, de este modo, de mantener la longitud del mismo. Dado que el acortamiento de telómero se ha relacionado tanto con transformación maligna como con envejecimiento (figura 54-7), la enzima telomerasa se ha convertido en un blanco atractivo para la quimioterapia de cáncer y el desarrollo de fármacos (figura 55-17). Cada cromátide hermana contiene una molécula de dsDNA (DNA bicatenario). Durante la interfase, la aglomeración de la molécula de DNA es menos densa que en el cromosoma condensado durante la metafase. Los cromosomas en metafase son casi por completo inactivos desde el punto de vista transcripcional.

CUADRO 35-2 Las proporciones de aglomeración de cada uno de los órdenes de estructura de DNA

Forma de cromatina	Proporción de aglomeración
DNA de doble hélice desnudo	~1.0
Fibrilla de 10 nm de nucleosomas	7-10
Fibrilla de cromatina de 30 nm de nucleosomas superhelicoidales	40-60
Cromosoma de asas en metafase condensado	8000

El genoma haploide de humanos consta de alrededor de 3×10^9 bp, y alrededor de 1.7×10^7 nucleosomas. Así, cada una de las 23 cromátides en el genoma haploide humano contendría en promedio 1.3×10^8 nucleótidos en una molécula de dsDNA; por ende, la longitud de cada molécula de DNA debe comprimirse alrededor de 8 000 veces para generar la estructura de un cromosoma en metafase condensado. En cromosomas en metafase, las fibras de cromatina de 30 nm también están plegadas hacia una serie de **dominios en bucle**, las porciones proximales de los cuales están ancladas a la matriz nuclear, probablemente por medio de interacciones con proteínas llamadas **láminas** que constituyen **componentes integrales de la membrana nuclear interna** dentro del núcleo (figuras 35-3 y 49-4).

El **cuadro 35-2** resume las proporciones de aglomeración de cada uno de los órdenes de estructura del DNA. La aglomeración de nucleoproteínas dentro de cromátides no es al azar, según queda de manifiesto por los modelos típicos observados cuando



FIGURA 35-6 Un cariotipo de humano (de un hombre con una constitución 46,XY normal), en el cual los cromosomas en metafase se han teñido mediante el método de Giemsa y alineado de acuerdo con la Paris Convention. (Reimpreso con permiso de H Lawce y F Conte).

los cromosomas se tiñen con colorantes específicos, como tinción de quinacrina o Giemsa (**figura 35-6**).

De un individuo a otro dentro de una especie única, el modelo de tinción (bandeo) de la totalidad del cromosoma es muy reproducible; con todo, difiere de manera significativa entre las especies, incluso las que están muy relacionadas. De este modo, la aglomeración de nucleoproteínas en cromosomas de eucariotas superiores debe depender de alguna manera de características específicas para especie de las moléculas de DNA.

Una combinación de técnicas de coloración especializada y microscopia de alta resolución ha permitido a los citogenetistas "mapear" de modo bastante preciso muchos genes a regiones específicas de cromosomas de ratón y humano. Con la elucidación reciente de las secuencias del genoma de humano y de ratón (entre otras), ha quedado claro que muchos de estos métodos de mapeo visual son bastante exactos.

Las regiones codificadoras a menudo están interrumpidas por secuencias interpuestas

Las **regiones codificadoras de proteína del DNA**, cuyas transcripciones aparecen en el citoplasma como moléculas de mRNA únicas, por lo general están **interrumpidas en el genoma eucariótico por secuencias interpuestas grandes de DNA que no codifica para proteína**. Por consiguiente, **las transcripciones primarias del DNA**, **los precursores de mRNA** (en un inicio denominados **hnRNA** porque esta especie de RNA fue bastante heterogénea en tamaño [longitud] y en su mayor parte estaba restringida al núcleo), contienen secuencias de RNA interpuestas no codificadoras que deben eliminarse en un proceso que también junta los segmentos codificadores apropiados para formar el mRNA maduro. Casi todas las secuencias codificadoras para un mRNA único están interrumpidas en el genoma (y, de esta manera, en la transcripción primaria) por al menos una (y en algunos casos hasta 50) secuencia interpuesta no codificadora **(intrones)**. Casi siempre, los intrones son mucho más largos que las regiones codificadoras **(exones)**. El procesamiento de la transcripción primaria, que comprende eliminación precisa de intrones y empalme de los exones adyacentes, se describe con detalle en el capítulo 36.

La función de las secuencias interpuestas, o intrones, no está totalmente clara. Sin embargo, moléculas precursoras de mRNA pueden empalmarse de manera diferencial, lo que aumenta el número de proteínas separadas (pero relacionadas) producidas por un gen único y su transcrito de gen que codifica para mRNA primario correspondiente. La función de las secuencias interpuestas, o intrones, no está por completo clara; tal vez sirvan para separar dominios funcionales (exones) de información codificadora en una forma que permite que el reordenamiento genético por medio de recombinación suceda con mayor rapidez que si todas las regiones codificadoras para una función genética dada fueran contiguas. Ese índice incrementado de reordenamiento genético de dominios funcionales podría permitir una evolución más rápida de la función biológica. En algunos casos otras proteínas o RNA no codificadores están ubicados dentro del DNA intrónico de ciertos genes (capítulo 34). En la **figura 35-7** se ilustran las vínculos entre DNA cromosómico, agrupaciones de gen en el cromosoma, la estructura de exón-intrón de genes y el producto mRNA final.

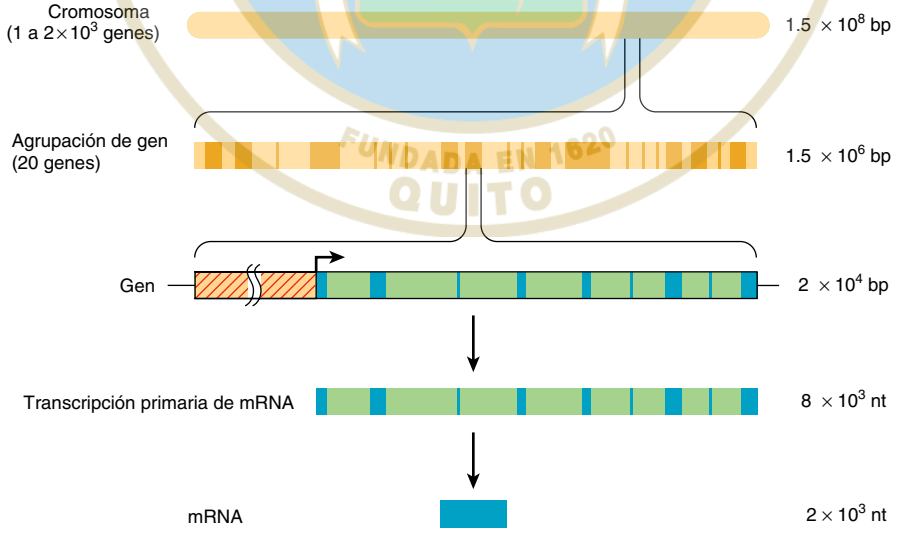


FIGURA 35-7 Las relaciones entre DNA y mRNA cromosómicos. La totalidad de DNA haploide humano de 3×10^9 pares de bases (bp) está distribuido entre 23 cromosomas (figura 35-6). Los genes están agrupados en estos cromosomas. Un gen promedio tiene 2×10^4 bp de longitud, incluso la región reguladora (áreas rojas), que por lo general está localizada en el extremo 5′ del gen. La región reguladora se muestra aquí como adyacente al sitio de inicio de transcripción (flecha). Casi todos los genes eucarióticos tienen exones e intrones que alternan. En este ejemplo, hay nueve exones (áreas azules) y ocho intrones (áreas verdes). Los intrones se eliminan de la transcripción primaria por medio de las reacciones de procesamiento, y los exones se ligan juntos en secuencia para formar el mRNA maduro a través de un proceso de división de RNA. (nt, nucleótidos).

NO SE ENTIENDE DEL TODO LA FUNCIÓN EXACTA DE GRAN PARTE DEL GENOMA DE MAMÍFEROS

El genoma haploide de cada célula de humano consta de 3×10^9 pares de bases (bp) de DNA subdivididos en 23 cromosomas. El genoma haploide completo contiene suficiente DNA para codificar para cerca de 1.5 millones de genes de tamaño promedio. Aun así, estudios de índices de mutación y de las complejidades de los genomas de organismos superiores sugieren fuertemente que los seres humanos tienen mucho menos de 100 000 proteínas codificadas por ~1% del genoma humano que está compuesto de DNA exónico. De hecho, estimados actuales sugieren que hay 25 000 o menos genes codificadores de proteína en los humanos. Esto implica que casi todo el DNA es no codificador de proteína; es decir, su información nunca se traduce hacia una secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína. Es cierto que algunas de las secuencias de DNA excesivas sirven para regular la expresión de genes en el transcurso del desarrollo, la diferenciación y la adaptación al ambiente, ya sea al servir como sitios de unión para proteínas reguladoras o al codificar para ncRNA. Está claro que algo del exceso constituye las secuencias interpuestas o intrones que dividen las regiones de genes codificadoras, y otra porción del exceso parece estar compuesta de muchas familias de secuencias repetidas para las cuales todavía no se han definido funciones claras, aunque algunos RNA pequeños transcritos a partir de estas repeticiones pueden modular la transcripción, sea de manera directa al interactuar con la maquinaria de transcripción, o indirecta al afectar la actividad de la plantilla de cromatina. Despierta interés que el ENCODE Project Consortium (capítulos 10 y 39) ha mostrado que la mayor parte de la secuencia genómica de hecho se transcribió aunque a un nivel bajo, una fracción grande de esta transcripción parece generar los lncRNA (capítulo 34). Investigación adicional elucidará el (los) papel(es) desempeñado(s) por esos transcritos.

El DNA en un genoma eucariótico puede ser dividido en diferentes "clases de secuencia", a saber, DNA de secuencia única, o DNA no repetitivo y DNA de secuencia repetitiva. En el genoma haploide, el DNA de secuencia única por lo regular incluye los genes de copia única que codifican para proteínas. El DNA repetitivo en el genoma haploide comprende secuencias cuyo número de copias varía desde 2 hasta 10^7 por célula.

Más de la mitad del DNA en los organismos eucarióticos está en secuencias únicas o no repetitivas

Tal estimación (y la distribución del DNA de secuencias repetitivas) se basa en diversas técnicas de hibridación de DNA-RNA y, en fecha más reciente, en la secuenciación directa de DNA. Se usan técnicas similares para estimar el número de genes activos en una población de DNA de secuencia única. En la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*, un eucariota inferior), alrededor de dos tercios de sus 6 200 genes se expresan, pero sólo ~1/5 se necesita para la viabilidad en condiciones de crecimiento en el laboratorio. En los tejidos típicos en un eucariota superior (p. ej., hígado y riñón de mamífero), entre 10 000 y 15 000 genes se expresan de modo activo. Diferentes combinaciones de genes se expresan en cada tejido, por supuesto, y cómo se logra esto es una de las principales preguntas sin respuesta en biología.

En el DNA de humanos, al menos 30% del genoma consta de secuencias repetitivas

El DNA de secuencia repetitiva se clasifica en términos generales como moderadamente repetitivo o como muy repetitivo. Las secuencias muy repetitivas constan de tramos de 5 a 500 pares de bases repetidos muchas veces en tándem. Estas secuencias suelen estar agrupadas en centrómeros y telómeros del cromosoma, y algunas están presentes en alrededor de 1 a 10 millones de copias por cada genoma haploide. Casi todas estas secuencias son inactivas en el aspecto transcripcional, y algunas tienen una función estructural en el cromosoma (figura 35-5; capítulo 39).

Las secuencias moderadamente repetitivas, que se definen como estar presentes en números de menos de 10^6 copias por cada genoma haploide, no están agrupadas sino que están entremezcladas con secuencias únicas. En muchos casos, estas repeticiones entremezcladas largas son transcritas por la RNA polimerasa II, y contienen cubiertas indistinguibles de las que se encuentran en el mRNA.

Según su longitud, las secuencias moderadamente repetitivas se clasifican como **secuencias repetidas entremezcladas largas** (**LINE**) o **secuencias repetidas entremezcladas cortas** (**SINE**). Ambos tipos parecen ser **retroposones**, es decir, surgieron por movimiento desde una ubicación hacia otra **(transposición)** a través de un RNA intermediario mediante la acción de la transcriptasa inversa que transcribe una plantilla de RNA hacia DNA. Los genomas de mamífero contienen 20 000 a 50 000 copias de las LINE de 6 a 7 kbp, las cuales representan familias de elementos repetidos específicas para especie. Las SINE son más cortas (70 a 300 bp) y llegan hasta más de 100 000 copias por cada genoma. De las SINE en el genoma humano, una familia, la **familia Alu**, está presente en alrededor de 500 000 copias por cada genoma haploide y explica ~ 10% del genoma humano. Los miembros de la familia Alu humana y sus análogos estrechamente relacionados en otros animales se transcriben como componentes integrales de precursores de mRNA o moléculas de RNA separadas, incluso los bien estudiados RNA 4.5S y RNA 7S. Estos miembros de la familia particulares están muy conservados dentro de una especie, así como entre especies de mamíferos. Los componentes de las repeticiones entremezcladas cortas, incluso los miembros de la familia Alu, pueden ser elementos móviles, capaces de saltar hacia adentro y hacia afuera de diversos sitios dentro del genoma (véase más adelante). Estos eventos de transposición llegan a tener resultados desastrosos, como se ejemplifica por la inserción de secuencias Alu hacia un gen que, cuando queda así mutado, origina neurofibromatosis. Además, se ha mostrado que los RNA SINE (elemento intercalado corto) Alu, B1 y B2 regulan la producción de mRNA en los ámbitos de transcripción y de empalme de mRNA.

Secuencias repetidas de microsatélite

Una categoría de secuencias repetidas existe como disposiciones en tándem tanto dispersas como agrupadas. Las secuencias constan de 2 a 6 bp repetidas hasta 50 veces. Estas **secuencias de microsatélite** se encuentran con mayor frecuencia como repeticiones

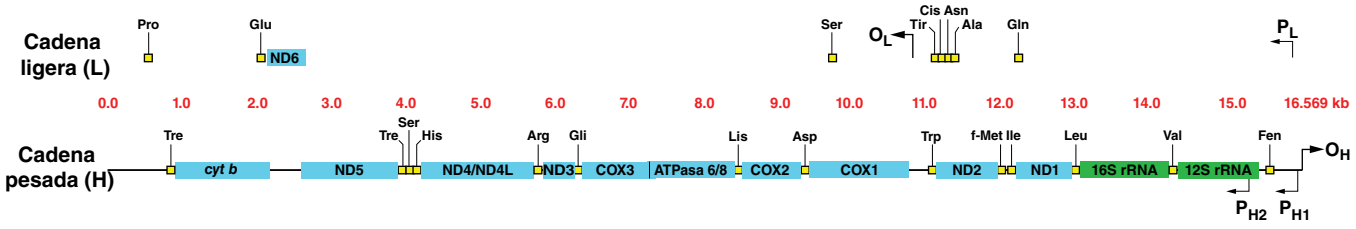


FIGURA 35-8 Mapa de genes mitocondriales del humano. Los mapas representan las llamadas cadenas ligeras (L; superior) y pesadas (H, inferior) del DNA mitocondrial (mt) linealizado de 16 569 pares de bases. Los mapas muestran los genes mt que codifican para subunidades de NADH-coenzima Q oxidorreductasa (ND1 a ND6), citocromo *c* oxidasa (COX1 a COX3), citocromo b *(cyt b),* ATP sintasa (ATPasa 6 y 8), y los rRNA ribosomales mt 12S y 16S. Los genes que codifican para RNA de transferencia (tRNA) mt se denotan mediante cuadros amarillos pequeños, y el código de tres letras que indica los aminoácidos cognados que especifican durante la traducción mt. El origen de la replicación de DNA de cadena pesada (O_H) y de cadena ligera (O_L), así como los promotores para el inicio de la transcripción de cadena pesada (P_{H1} y P_{H2}) y de cadena ligera (P_L) se indican mediante flechas y letras (cuadro 57-3). Figura generada con el uso de mitocondrias de *Homo sapiens,* genoma completo; secuencia: NCBI Reference NC_012920.1 y anotaciones en el mismo.

de dinucleótido de AC en una cadena, y TG en la cadena opuesta, pero se encuentran varias otras formas, entre ellas CG, AT y CA. Las secuencias repetidas AC ocurren en 50 000 a 100 000 ubicaciones en el genoma. En cualquier *locus,* el número de estas repeticiones puede variar en los dos cromosomas, lo que proporciona heterocigosidad del número de copias de un número de microsatélite particular en un individuo. Se trata de un rasgo hereditario, y debido a su número y a la facilidad para detectarlas usando la **reacción en cadena de polimerasa (PCR)** (capítulo 39), esas repeticiones son útiles para construir mapas de enlace genético. Casi todos los genes muestran vínculo con uno o más marcadores microsatélite, de manera que es posible evaluar la posición relativa de genes en cromosomas, al igual que la relación de un gen con una enfermedad. Usando PCR, un gran número de miembros de la familia se puede investigar con rapidez para un cierto **polimorfismo de microsatélite**. La asociación de un polimorfismo específico con un gen en miembros de una familia afectados (y la ausencia de este vínculo en miembros no afectados) puede ser el primer indicio en cuanto a la base genética de una enfermedad.

Las secuencias de trinucleótido que aumentan de número (inestabilidad de microsatélite) pueden causar enfermedad. La secuencia de repetición $p(CGG)_n$ inestable se relaciona con el síndrome de X frágil. Otras repeticiones de trinucleótido que pasan por mutación dinámica (por lo general un incremento) muestran vínculo con corea de Huntington (CAG), distrofia miotónica (CTG), atrofia muscular espinobulbar (CAG) y enfermedad de Kennedy (CAG).

UNO POR CIENTO DEL DNA CELULAR ESTÁ EN MITOCONDRIAS

Casi todos los péptidos en mitocondrias (alrededor de 54 de 67) están codificados por genes nucleares, en tanto que el resto está codificado por genes que se encuentran en DNA mitocondrial (mt). En el humano, las mitocondrias contienen 2 a 10 copias de una pequeña ~ 16 kbp molécula de dsDNA circular que constituye alrededor de 1% del DNA celular total. Este mtDNA codifica para RNA ribosómico y de transferencia específicos para mt, y para 13 proteínas que desempeñan funciones clave en la cadena respiratoria (capítulo 13). La **figura 35-8** muestra el mapa estructural linealizado de los genes mitocondriales de ser humano. El **cuadro 35-3** lista algunas de las características del mtDNA.

Una característica importante del mtDNA mitocondrial de humano es que (puesto que el huevo contribuye con todas las mitocondrias durante la formación del cigoto) se transmite por herencia no mendeliana materna. De este modo, en enfermedades que se producen por mutaciones del mtDNA, una madre afectada en teoría transmitiría la enfermedad a todos sus hijos, pero sólo sus hijas transmitirían el rasgo. Comoquiera que sea, en algunos casos, las deleciones en el mtDNA suceden durante la oogénesis y, de esta manera, no se heredan desde la madre; de manera reciente ha quedado demostrado que varias enfermedades se deben a mutaciones del mtDNA; entre ellas están diversas

CUADRO 35-3 Características importantes del DNA mitocondrial de ser humano

- Es circular, bicatenario, y está compuesto de cadenas pesadas (H) y ligeras (L)
- Contiene 16 569 bp
- Codifica para 13 subunidades proteínicas de la cadena respiratoria (de un total de alrededor de 67)
  - Siete subunidades de NADH deshidrogenasa (complejo I)
  - Citocromo *b* del complejo III
  - Tres subunidades de citocromo oxidasa (complejo IV)
  - Dos subunidades de ATP sintasa
- Codifica para RNA ribosómicos grande (16S) y pequeño (12S)
- Codifica para 22 moléculas de tRNA mt
- El código genético difiere un poco del código estándar
  - UGA (codón de detención estándar) se lee como Trp
  - AGA y AGG (codones estándar para Arg) se leen como codones de detención
- Contiene muy pocas secuencias no traducidas
- Índice de mutación alto (5 a 10 veces el del DNA nuclear)
- Las comparaciones de secuencias de mtDNA proporcionan evidencia acerca de los orígenes evolutivos de primates y otras especies

Fuente: Adaptado de Harding AE: Neurological disease and mitochondrial genes. Trends Neurol Sci 1991;14:132. Copyright ©1991. Reimpreso con autorización de Elsevier.

miopatías, trastornos neurológicos y algunos casos de diabetes mellitus.

EL MATERIAL GENÉTICO SE PUEDE ALTERAR Y REORDENAR

Una alteración de la secuencia de bases purina y pirimidina en un gen debido a un cambio (una eliminación o una inserción) de una o más bases puede suscitar un producto de gen alterado o la alteración de la expresión génica si DNA codificado no proteínico está implicado. Tal alteración en el material genético produce una **mutación** cuyas consecuencias se comentan con detalle en el capítulo 37.

La recombinación cromosómica es un modo de reordenar el material genético

La información genética puede intercambiarse entre cromosomas similares u homólogos. El intercambio, o evento de **recombinación**, se produce principalmente en el transcurso de la meiosis en células de mamífero, y requiere alineamiento de cromosomas en metafase homólogos, un alineamiento que casi siempre sucede con gran exactitud. Ocurre un proceso de entrecruzamiento (**figura 35-9**). Esto por lo general ocasiona un intercambio igual o recíproco de información genética entre cromosomas homólogos.

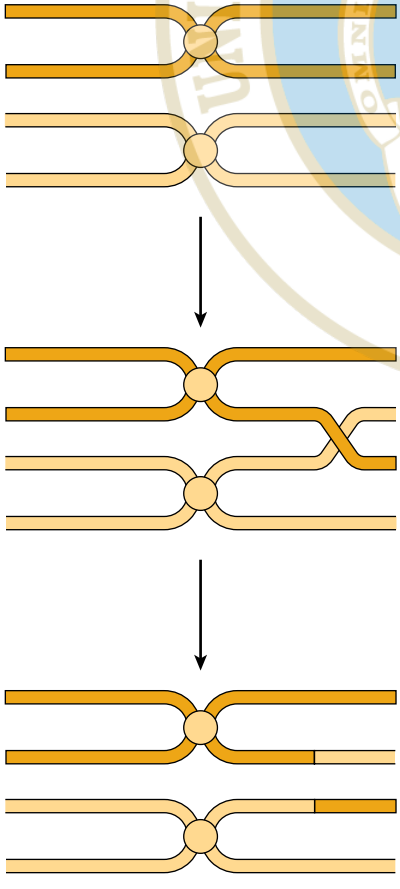


FIGURA 35-9 El proceso de entrecruzamiento entre cromosomas en metafase homólogos para generar cromosomas recombinantes. Véase también la figura 35-12.

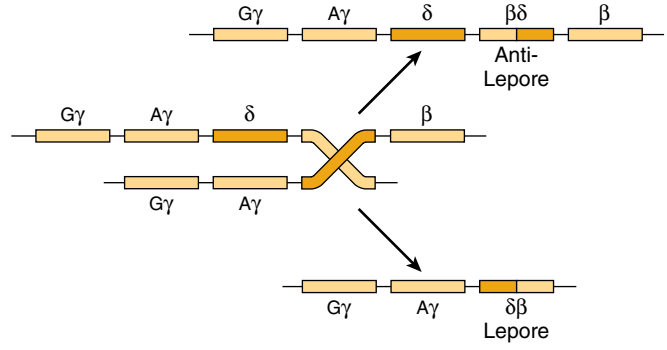


FIGURA 35-10 El proceso de entrecruzamiento desigual en la región del genoma de mamífero que alberga los genes estructurales que codifican para hemoglobinas y la generación de los productos recombinantes desiguales hemoglobina delta-beta Lepore y beta-delta anti-Lepore. Los ejemplos dados muestran las ubicaciones de las regiones de entrecruzamiento dentro de las regiones que codifican para aminoácidos de los genes indicados (genes de globina β y δ). (Redibujado y reproducido, con autorización, de Clegg JB, Weatherall DJ: β^0 Thalassemia: Time for a reappraisal? Lancet 1974;2:133. Copyright ©1974. Reimpreso con autorización de Elsevier).

Si los cromosomas homólogos poseen diferentes alelos de los mismos genes, el entrecruzamiento llega a producir diferencias de enlace genético notables y hereditarias. En el raro caso en el cual el alineamiento de cromosomas homólogos es impreciso, el evento de entrecruzamiento o recombinación puede traducirse en un intercambio desigual de información. Un cromosoma quizá reciba menos material genético y, así, una deleción, mientras que el otro miembro del par de cromosomas recibe más material genético y, de esta manera, una inserción o duplicación (figura 35-9). El entrecruzamiento desigual ocurre en humanos, según se demuestra por la existencia de hemoglobinas designadas Lepore y anti-Lepore (**figura 35-10**). Mientras más separadas están dos secuencias en un cromosoma individual, mayor es la probabilidad de un evento de recombinación por entrecruzamiento. Tal es la base de los métodos de mapeo genético. El **entrecruzamiento desigual** afecta disposiciones en tándem de DNA repetidos independientemente de si son genes que codifican para globina relacionados (**figura 35-10**) o DNA repetitivo más abundante. El entrecruzamiento desigual por deslizamiento en la formación de pares puede dar por resultado expansión o contracción del número de copias de la familia repetida, y contribuir a la expansión y fijación de miembros variantes en toda la disposición de repetición.

Ocurre integración cromosómica con algunos virus

Algunos virus bacterianos (bacteriófagos) tienen la capacidad de recombinarse con el DNA de un huésped bacteriano de tal modo que la información genética del bacteriófago se incorpora de una manera lineal hacia la del huésped. Esta integración, que es una forma de recombinación, sucede por medio del mecanismo que se ilustra en la **figura 35-11**. El esqueleto del genoma de bacteriófago circular se rompe, al igual que el de la molécula de DNA del huésped; los extremos apropiados se vuelven a sellar con la polaridad apropiada. El DNA del bacteriófago se endereza ("linealiza") de modo figurativo, a medida que se integra en la molécula de DNA

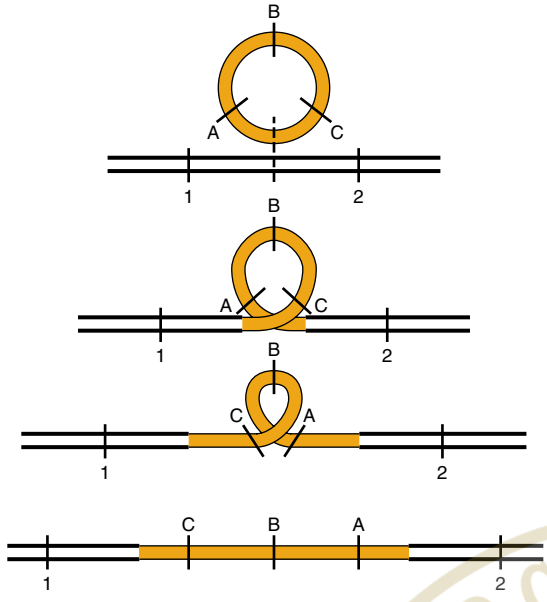


FIGURA 35-11 **La integración de un genoma circular de un virus (con genes A, B y C) hacia la molécula de DNA de un huésped (con genes 1 y 2) y el ordenamiento consiguiente de los genes.**

bacteriano, a menudo también un círculo cerrado. El sitio en el cual el genoma del bacteriófago se integra o se recombina con el genoma bacteriano se elige mediante uno de dos mecanismos. Si el bacteriófago contiene una secuencia de DNA **homóloga** a una secuencia en la molécula de DNA huésped, puede producirse un e vento de recombinación análogo al que ocurre entre cromosomas homólogos. De cualquier manera, algunos bacteriófagos sintetizan proteínas que unen sitios específicos en cromosomas bacterianos a un sitio **no homólogo** característico de la molécula de DNA del bacteriófago. La integración sucede en el sitio y se dice que es **"específica para sitio"**.

Muchos virus de animales, en especial los virus oncogénicos (sea de modo directo o, en el caso de virus RNA como el HIV que origina del SIDA, sus transcripciones de DNA generadas por medio de la acción de la **DNA polimerasa dependiente de RNA** viral, o **transcriptasa inversa**) pueden integrarse hacia cromosomas de la célula de mamífero. La integración del DNA del virus de animal hacia el genoma del animal por lo general no es "específica para sitio" sino que despliega preferencias por sitio.

La transposición puede producir genes procesados

En células eucarióticas, elementos de DNA pequeños que claramente no son virus tienen la capacidad de transponerse ellos mismos hacia adentro y hacia afuera del genoma del huésped de maneras que afectan la función de secuencias de DNA vecinas. Estos elementos móviles, a veces llamados **"DNA saltador"**, o genes saltadores, pueden portar regiones flanqueantes de DNA y, por tanto, afectar de manera profunda la evolución. Como se mencionó, la familia Alu de secuencias de DNA moderadamente repetidas tiene características estructurales similares a los términos de retrovirus, lo que explicaría la capacidad de estos últimos para entrar y salir del genoma de mamífero.

El descubrimiento de **"genes procesados"** para moléculas de inmunoglobulina, moléculas de α-globulina, y varias otras, ha proporcionado evidencia directa de la transposición de otros elementos de DNA pequeños hacia el genoma humano. Dichos genes procesados constan de secuencias de DNA idénticas o casi idénticas a las del RNA mensajero para el producto de gen apropiado. Así que la región 5′-no traducida, la región codificadora sin representación de intrón, y la cola 3′ poli(A) están presentes de modo contiguo. Este ordenamiento de secuencia de DNA particular debe haberse producido por la transcripción inversa de una molécula RNA mensajero procesada de modo apropiado, de la cual las regiones intrón se habían eliminado y a la cual la cola poli(A) se había añadido. El único mecanismo reconocido que esta transcripción inversa podría haber usado para integrarse en el genoma habría sido un evento de transposición. De hecho, estos "genes procesados" tienen repeticiones terminales cortas en cada extremo, al igual que las secuencias transpuestas conocidas en organismos inferiores. En ausencia de su transcripción y, de esta manera, de selección genética para función, muchos de los genes procesados se han alterado al azar mediante evolución, de modo que ahora contienen codones sin sentido que eliminan su capacidad para codificar para una proteína funcional intacta (capítulo 37) incluso si pueden ser transcritos; se les denomina **"seudogenes"**.

La conversión de gen produce reordenamientos

Además de entrecruzamiento desigual y transposición, un tercer mecanismo puede producir cambios rápidos en el material genético. Secuencias similares en cromosomas homólogos o no homólogos en ocasiones pueden parearse y eliminar cualquier secuencia desproporcionada entre ellas. Esto puede llevar a la fijación accidental de una variante u otra en toda una familia de secuencias repetidas y, de esta manera, homogeneizar las secuencias de los miembros de las familias de DNA repetitivo. Este último proceso se llama **conversión de gen**.

Cromátides hermanas se intercambian

En organismos eucarióticos diploides, como los humanos, después de que las células progresan por la fase S, tienen un contenido tetraploide de DNA, que se encuentra en la forma de cromátides hermanas de pares de cromosomas (figura 35-6). Cada una de estas cromátides hermanas contiene información genética idéntica dado que cada una es un producto de la replicación semiconservadora de la molécula de DNA madre original de ese cromosoma. Puede haber entrecruzamiento entre estas cromátides hermanas idénticas desde el punto de vista genético. Por supuesto, estos **intercambios de cromátides hermanas** (**figura 35-12**) carecen de consecuencias genéticas en tanto el intercambio sea el resultado de un entrecruzamiento igual.

Los genes que codifican para inmunoglobulina se reordenan

En células de mamífero, algunos reordenamientos de gen interesantes ocurren normalmente durante el desarrollo y la diferenciación. Por ejemplo, los genes V_L y C_L, que codifican para las porciones variable (V_L) y conservada (C_L) de la cadena ligera de inmunoglobulina G (IgG) en una molécula de IgG única (ca-



FIGURA 35-12 Intercambios de cromátide hermana entre cromosomas de humano. Los cuales son detectables mediante tinción de Giemsa de los cromosomas de células replicadas durante dos ciclos en presencia de bromodesoxiuridina. Las flechas indican algunas regiones de intercambio. (Cortesía de S Wolff y J Bodycote).

pítulo 38), están ampliamente separados en el DNA de la línea germinal. En el DNA de una célula productora de inmunoglobulina (plasmática) diferenciada, los mismos genes V_L y C_L se han movido físicamente para acercarse en el genoma y hacia la misma unidad de transcripción. No obstante, incluso entonces, este reordenamiento de DNA en el transcurso de la diferenciación no produce contigüidad de los genes V_L y C_L en el DNA. En lugar de eso, el DNA contiene una secuencia entremezclada o de interrupción de alrededor de 1 200 bp en la unión de las regiones V y C o cerca de la misma. La secuencia entremezclada se transcribe hacia RNA junto con los genes V_L y C_L, y la información entremezclada de secuencia no IgG se elimina del RNA durante su procesamiento nuclear (capítulos 36 y 38).

LA SÍNTESIS Y REPLICACIÓN DE DNA ESTÁN CONTROLADAS DE FORMA RÍGIDA

Queda claro que la función primaria de la replicación del DNA es el suministro de progenie con la información genética poseída por el progenitor. De este modo, la replicación del DNA debe ser completa y efectuarse de tal manera que mantenga estabilidad genética dentro del organismo y la especie. El proceso de replicación del DNA es complejo y comprende muchas funciones celulares y varios procedimientos de verificación para asegurar fidelidad en la replicación. Alrededor de 30 proteínas participan en la replicación del cromosoma de *Escherichia coli*, y este proceso es más complejo en organismos eucarióticos. Arthur Kornberg hizo las primeras observaciones enzimológicas acerca

CUADRO 35-4 Pasos comprendidos en la replicación de DNA en eucariotas

1.	Identificación de los orígenes de replicación
2.	Desenrrollado propiciado por hidrólisis de ATP de dsDNA para proporcionar una plantilla de ssDNA
3.	Formación de la horquilla de replicación; síntesis de preparador de RNA
4.	Inicio de la síntesis y el alargamiento de DNA
5.	Formación de burbujas de replicación con ligadura de los segmentos de DNA recién sintetizados
6.	Reconstitución de la estructura de cromatina

de replicación de DNA; describió en *E. coli* la existencia de una enzima ahora denominada DNA polimerasa I. Esta enzima tiene múltiples actividades catalíticas, una estructura compleja, y un requerimiento de los trifosfatos de los cuatro desoxirribonucleósidos de adenina, guanina, citocina y timina. La reacción de polimerización catalizada por la DNA polimerasa I de *E. coli* ha servido como prototipo para todas las DNA polimerasas tanto de procariotas como de eucariotas, aun cuando ahora se reconoce que la principal función de esta polimerasa es la corrección de pruebas y la reparación.

En todas las células, la replicación únicamente puede ocurrir a partir de una plantilla de DNA monocatenario (ssDNA). En consecuencia, debe haber mecanismos para dirigir el sitio de inicio de la replicación y para desenrollar el DNA bicatenario (dsDNA) en esa región. A continuación debe formarse el complejo de replicación. Luego de que se completa la replicación en un área, las cadenas madre e hija tienen que volver a formar dsDNA. En células eucarióticas se requiere un paso adicional. El dsDNA debe volver a formar la estructura de cromatina, incluso nucleosomas, que existió antes del inicio de la replicación. Aunque todo este proceso no se entiende por completo en células eucarióticas, la replicación se ha descrito con bastante exactitud en células procarióticas, y los principios generales son los mismos en ambas. Los principales pasos se listan en el **cuadro 35-4**, se ilustran en la **figura 35-13**, y se comentan, en secuencia, a continuación. Este proceso involucra varias proteínas, casi todas con acción enzimática específica (**cuadro 35-5**).

El origen de la replicación

En el **origen de replicación (ori)**, hay una asociación de proteínas de unión a dsDNA específicas para secuencia, con una serie de secuencias de DNA repetidas directas. En el bacteriófago λ, el oriλ es unido por la proteína O codificada por λ a cuatro sitios adyacentes. En *E. coli*, el oriC es unido por la proteína dnaA. En ambos casos, se forma un complejo que consta de 150 a 250 bp de DNA y multímeros de la proteína de unión a DNA. Esto da pie a la desnaturalización y el desenrollado locales de una región de DNA rica en A+T. En células de levadura se han identificado **secuencias de replicación autónoma (ARS) o replicadores**, similares en el aspecto funcional. Las ARS contienen una secuencia de 11 bp un poco degenerada llamada el **elemento de replicación de origen (ORE)**. El ORE se une a un grupo de proteínas, análogas a la proteína dnaA de *E. coli*; el grupo de proteínas se

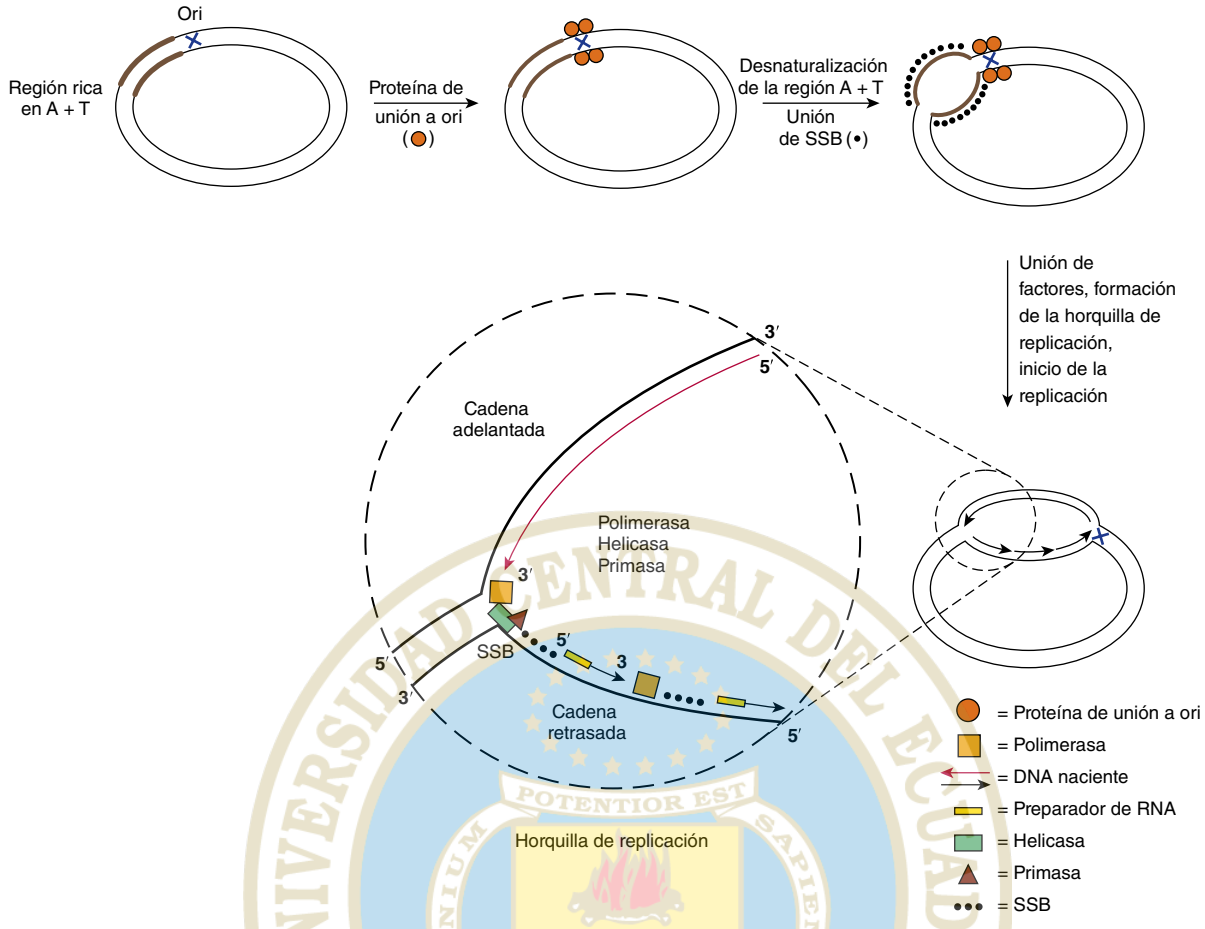


FIGURA 35-13 Pasos incluidos en la replicación de DNA. Esta figura describe la replicación de DNA en una célula de *E. coli*, pero los pasos generales son similares en eucariotas. Una interacción específica de una proteína (la proteína dnaA) con el origen de replicación (oriC) produce desenrollado local del DNA en una región adyacente rica en A+T. El DNA en esta área se mantiene en la conformación de cadena única (ssDNA) por medio de proteínas de unión a cadena única (SSB). Esto permite que diversas proteínas, entre ellas la helicasa, primasa y DNA polimerasa, se unan e inicien la síntesis de DNA. La horquilla de replicación procede conforme la síntesis de DNA sucede de manera continua (flecha roja larga) sobre la cadena adelantada, y de modo discontinuo (flechas de color negro cortas) en la cadena retrasada. El DNA naciente siempre se sintetiza en la dirección 5′ a 3′, dado que las DNA polimerasas sólo pueden añadir un nucleótido al extremo 3′ de una cadena de DNA.

denomina en conjunto el **complejo de reconocimiento de origen (ORC)**. Se han encontrado homólogos de ORC en todos los eucariotas examinados. El ORE está ubicado adyacente a una secuencia rica en A+T de unos 80 bp que es fácil de desenrollar, la cual recibe el nombre de **elemento de desenrollado de DNA (DUE)**. El DUE es el origen de la replicación en levaduras, y es unido por el complejo de proteínas MCM.

En células de mamífero no se ha logrado un consenso en la definición precisa de secuencias similares en estructura a ori o ARS, aun cuando se han identificado varias de las proteínas que participan en el reconocimiento y la función de ori, y parecen bastante similares a sus homólogos en levaduras tanto en secuencia de aminoácidos como en función.

CUADRO 35-5 Clases de proteínas comprendidas en la replicación

Proteína	Función
DNA polimerasas	Polimerización de desoxinucleótido
Helicasas	Desenrollamiento procesivo de DNA
Topoisomerasas	Alivia la tensión de torsión que se produce por desenrollado inducido por helicasa
DNA primasa	Inicia la síntesis de preparadores de RNA
Proteínas de unión de cadena única	Evita el retemplado prematuro de dsDNA
DNA ligasa	Sella la muesca de cadena única entre la cadena naciente y fragmentos de Okazaki en la cadena retrasada

Desenrollado del DNA

La interacción de proteínas con ori define el sitio de inicio de la replicación, y proporciona una región corta de ssDNA esencial para el inicio de la síntesis de la cadena de DNA naciente; este proceso necesita la formación de varias interacciones entre una proteína y otra, y entre proteína y DNA. Una DNA helicasa que permite el desenrollado procesivo de DNA proporciona un paso crítico. En

E. coli no infectada, un complejo de dnaB helicasa y la proteína dnaC provee esta función. Proteínas de unión a DNA monocatenario (SSB) estabilizan este complejo. En *E. coli* infectada por λ fago, la proteína P del fago se une a dnaB, y el complejo de P/dnaB se une a oriλ al interactuar con la proteína O. La dnaB no es una helicasa activa cuando está en el complejo de P/dnaB/O. Tres proteínas de choque por calor de *E. coli* (dnaK, dnaJ y GrpE) cooperan para eliminar la proteína P y activar la dnaB helicasa. En cooperación con SSB, esto lleva al desenrollado y replicación activa del DNA. Así, la replicación del fago λ se logra a expensas de la replicación de la célula de *E. coli* huésped.

Formación de la horquilla de replicación

Una horquilla de replicación consta de cuatro componentes que se forman en la secuencia que sigue: 1) la DNA helicasa desenrolla un segmento corto del DNA dúplex madre; 2) una primasa inicia la síntesis de una molécula de RNA que es esencial para preparar la síntesis de DNA; 3) la DNA polimerasa inicia la síntesis de la cadena hija, naciente, y 4) las SSB se unen al ssDNA y evitan el retemplado prematuro de ssDNA hacia dsDNA. Dichas reacciones se ilustran en la figura 35-13.

La enzima DNA polimerasa III (el producto del gen *dnaE* en *E. coli*) se une a DNA plantilla como parte de un complejo de múltiples proteínas que consta de varios factores accesorios de polimerasa (β, γ, δ, δ′ y τ). Las DNA polimerasas sólo sintetizan DNA en la dirección 5′ a 3′, y únicamente uno de los varios tipos diferentes de polimerasas participa en la horquilla de replicación. Puesto que las cadenas de DNA son antiparalelas (capítulo 34), la polimerasa funciona de modo asimétrico. En la **cadena adelantada** (**hacia adelante**, también denominada cadena líder, guía o conductora), el DNA se sintetiza de manera continua. En la **cadena retrasada** (**retrógrada**, también llamada cadena rezagada o retardada), el DNA se sintetiza en fragmentos cortos (1 a 5 kb; figura 35-16), los denominados **fragmentos de Okazaki**, llamada así en honor al científico que las descubrió. Varios fragmentos Okazaki (hasta 1 000) deben sintetizarse de modo secuencial para cada horquilla de replicación. Con el fin de asegurar que esto suceda, la helicasa actúa sobre la cadena retrasada para desenrollar dsDNA en una dirección 5′ a 3′. La helicasa se asocia con la primasa para permitir a esta última acceso apropiado a la plantilla; lo anterior permite que sea formado el preparador de RNA y, a su vez, que la polimerasa empiece a replicar el DNA. Se trata de una secuencia de reacción importante dado que las DNA polimerasas no pueden iniciar la síntesis de DNA *de novo*. El complejo móvil entre helicasa y primasa se ha llamado un **primosoma**. Conforme se completa la síntesis de un fragmento de Okazaki y se libera la polimerasa, se ha sintetizado un nuevo preparador. La misma molécula de polimerasa permanece asociada con la horquilla de replicación, y procede a sintetizar el siguiente fragmento de Okazaki.

El complejo de DNA polimerasa

Varias moléculas de DNA polimerasa diferentes se encargan de la replicación de DNA y comparten tres propiedades importantes: 1) **alargamiento de cadena**, 2) **procesividad** y 3) **corrección de pruebas**. El alargamiento de cadena explica el índice (en nucleótidos por segundo, nt/s) al cual ocurre la polimerización. La procesividad es una expresión del número de nucleótidos añadidos a la cadena naciente antes de que la polimerasa se separe de la plantilla. La función de corrección de pruebas identifica errores de copiado y los corrige. En *E. coli*, la DNA polimerasa III (pol III) funciona en la horquilla de replicación. De todas las polimerasas, cataliza el índice más alto de alargamiento de cadena, y es la más procesiva. Tiene la capacidad de polimerizar 0.5 Mb de DNA durante un ciclo en la cadena adelantada. La Pol III es un complejo proteínico de múltiples subunidades, grande (> 1 MDa), en *E. coli*. La DNA pol III se asocia con las dos subunidades β idénticas de la "abrazadera" de deslizamiento de DNA; esta asociación aumenta de manera notoria la estabilidad del complejo de pol III-DNA, la procesividad (100 ntd a > 50 000 ntd) y el índice de alargamiento de cadena (20 a 50 ntd/s), lo que genera el alto grado de procesividad que demuestra la enzima.

CUADRO 35-6 Una comparación de DNA polimerasas procariótica y eucariótica

E coli	Eucariótica	Función
I		Llenado de brecha después de replicación, reparación y recombinación de DNA
II		Lectura de pruebas y reparación de DNA
	β	Reparación de DNA
	γ	Síntesis de DNA mitocondrial
III	ε	Síntesis de cadena adelantada, procesiva
DnaG	α	Primasa
	δ	Síntesis de cadena retrasada, procesiva

Las polimerasas I (pol I) y II (pol II) participan en su mayor parte en la corrección de pruebas y la reparación de DNA. Las células eucarióticas tienen homólogos para cada una de estas enzimas, más un número grande de DNA polimerasas adicionales que participan de modo primario en la reparación del DNA. El **cuadro 35-6** muestra una comparación.

En células de mamífero, la polimerasa tiene la capacidad de polimerizar a un índice que es un poco más lento que el índice de polimerización de desoxinucleótidos por el complejo de DNA polimerasa bacteriano. Este índice disminuido quizá depende de interferencia por nucleosomas.

Inicio y alargamiento de la síntesis de DNA

El inicio de la síntesis de DNA (**figura 35-14**) requiere **preparación por un tramo corto de RNA**, de alrededor de 10 a 200 nucleótidos de largo. En *E. coli* esto es catalizado por la dnaG (primasa); en eucariotas la DNA Pol α sintetiza estos preparadores de RNA. El proceso de preparación incluye ataque nucleofílico por el grupo 3′-hidroxilo del preparador de RNA sobre el fosfato del desoxinucleósido trifosfato que entra primero (*N* en la figura 35-14) con separación de pirofosfato; esta transición hacia síntesis de DNA es catalizada por las DNA polimerasas apropiadas (DNA pol III en *E. coli*; DNA pol δ y ε en eucariotas). El grupo 3′-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosfato recientemente fijado queda libre entonces para llevar a cabo

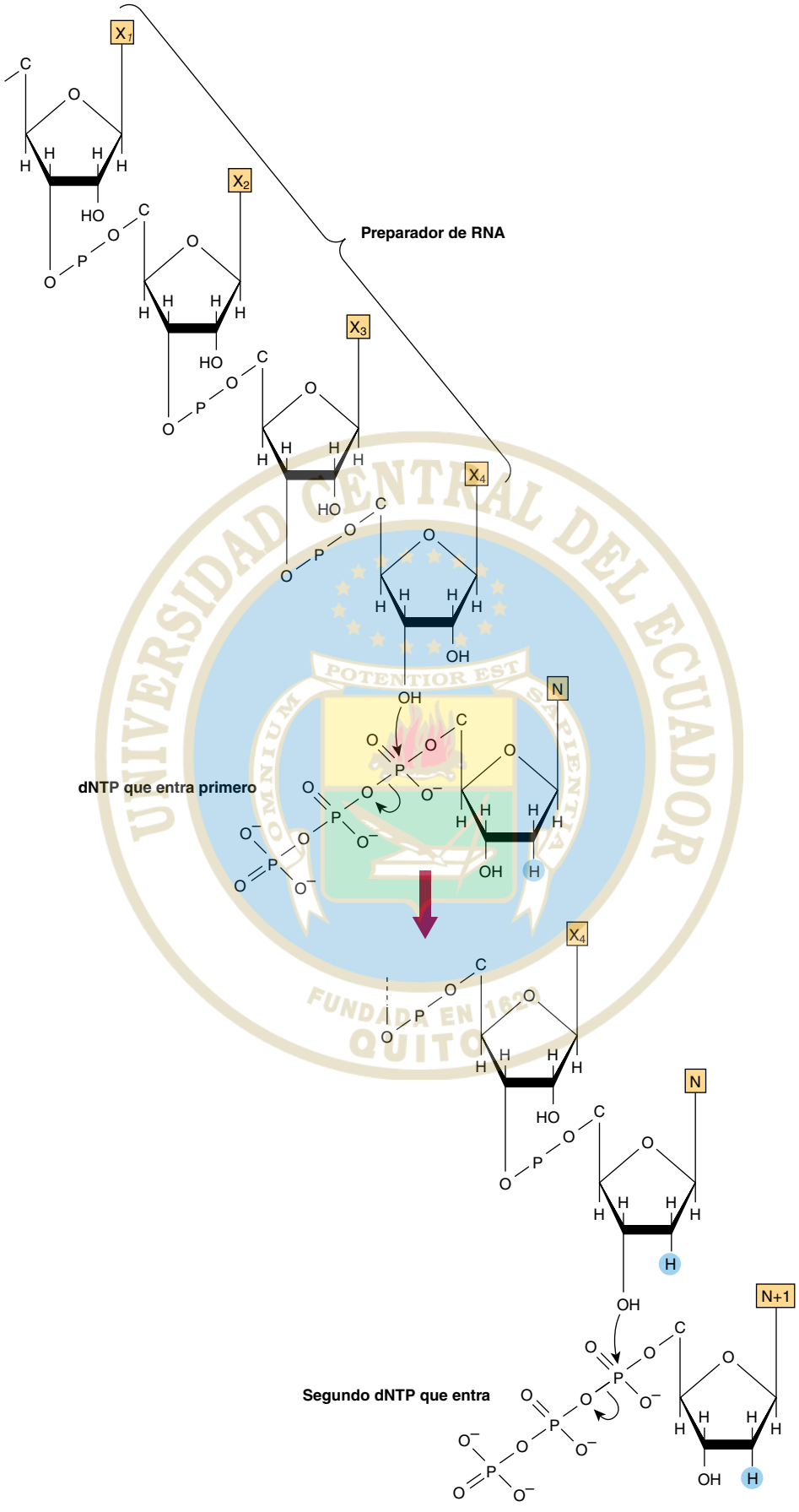


FIGURA 35-14 **El inicio de la síntesis de DNA sobre un preparador de RNA, y la fijación subsiguiente del segundo desoxirribonucleósido trifosfato.**

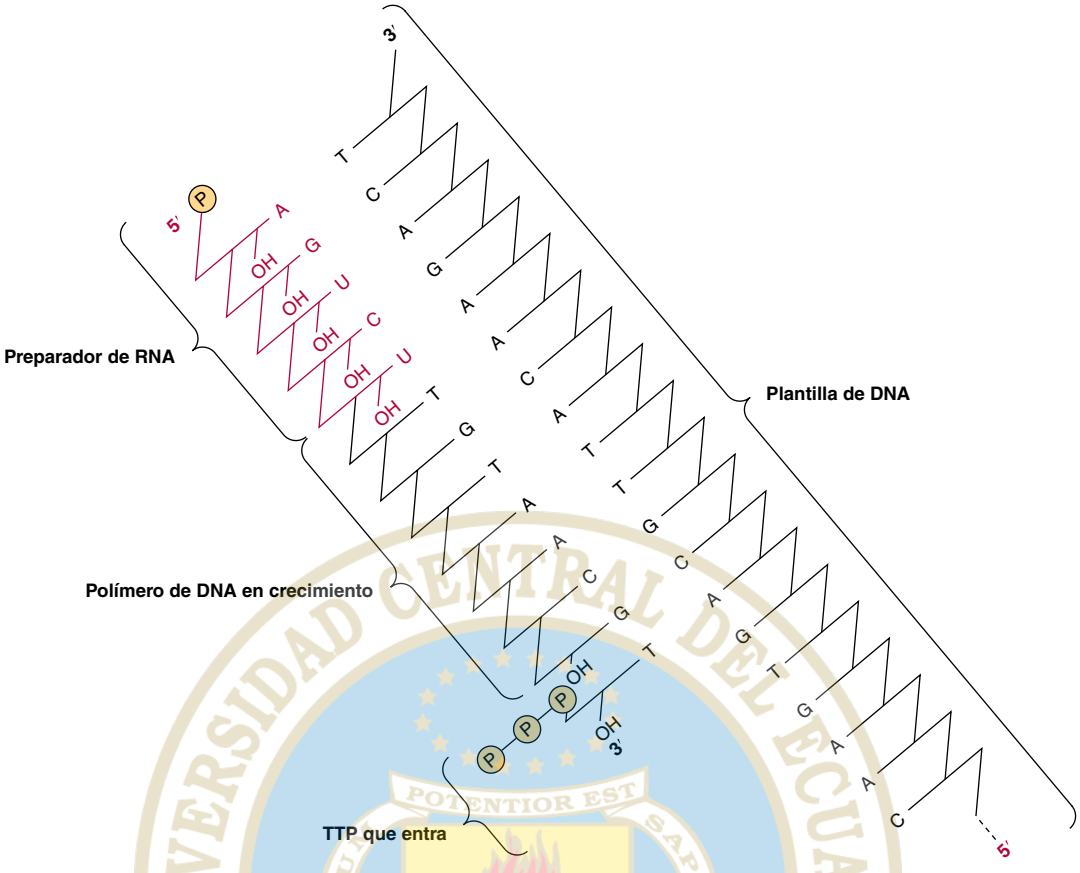


FIGURA 35-15 **La síntesis de DNA preparada por RNA que demuestra la función de plantilla de la cadena complementaria del DNA madre.**

un **ataque nucleofílico** sobre el siguiente desoxirribonucleósido trifosfato que entre (N + 1 en la figura 35-14), de nuevo en su porción fosfato α, con la separación de pirofosfato. Por supuesto, la selección del desoxirribonucleótido apropiado cuyo grupo 3′-hidroxilo terminal va a ser atacado depende de la **formación apropiada de pares de bases con la otra cadena** de la molécula de DNA de acuerdo con las reglas de pareo de bases de Watson y Crick (**figura 35-15**). Cuando una porción adenina desoxirribonucleósido monofosforilo está en la posición de plantilla, una timidina trifosfato entrará, y el grupo 3′-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosforilo añadido más recientemente al polímero atacará su fosfato α. Por medio de este proceso por pasos, la plantilla dicta cuál desoxirribonucleósido trifosfato es complementario, y mediante enlaces de hidrógeno lo sostiene en su sitio mientras el grupo 3′-hidroxilo de la cadena en crecimiento ataca e incorpora el nuevo nucleótido hacia el polímero. Estos segmentos de DNA fijos a un componente iniciador de RNA son los **fragmentos de Okazaki** (**figura 35-16**). En mamíferos, después de que se generan muchos de estos fragmentos, el complejo de replicación empieza a eliminar los preparadores de RNA, a llenar las brechas dejadas por su eliminación con el desoxinucleótido pareado con base apropiado, y luego a sellar los fragmentos de DNA recién sintetizado, por medio de enzimas denominadas **DNA ligasas**.

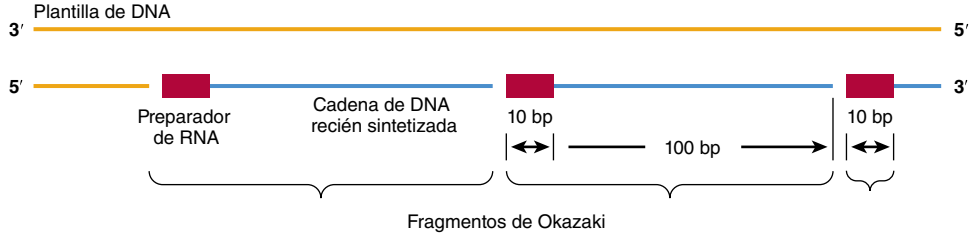


FIGURA 35-16 **La polimerización discontinua de desoxirribonucleótidos en la cadena retrasada; se ilustra la formación de fragmentos de Okazaki durante la síntesis de DNA de cadena retrasada.** Dichos fragmentos tienen 100 a 250 nucleótidos de largo en eucariotas y 1 000 a 2 000 nucleótidos en procariotas.

La replicación muestra polaridad

Como se mencionó, las moléculas de DNA son bicatenarias, y las dos cadenas son antiparalelas. La replicación de DNA en procariotas y eucariotas sucede en ambas cadenas a la vez; sin embargo, una enzima que tiene la capacidad de polimerizar DNA en la dirección 3′ a 5′ no existe en organismo alguno, de manera que las dos cadenas de DNA recién replicadas no pueden crecer en la misma dirección de modo simultáneo. Sin embargo, en bacterias la misma enzima replica ambas cadenas al mismo tiempo (en eucariontes Pol ε y Pol δ catalizan la síntesis de las cadenas adelantada y retrasada; cuadro 35-6. La enzima única replica una cadena ("cadena adelantada") de una manera continua en la dirección 5′ a 3′, con la misma dirección anterógrada general. Replica la otra cadena ("cadena retrasada") de modo discontinuo mientras polimeriza los nucleótidos en sucesiones cortas de 150 a 250 nucleótidos, de nuevo en la dirección 5′ a 3′, pero al mismo tiempo mira hacia el extremo posterior del preparador de RNA precedente en lugar de hacia la porción no replicada. Este proceso de **síntesis de DNA semidiscontinua** se muestra en un diagrama en las figuras 35-13 y 35-16.

Formación de burbujas de replicación

La replicación del cromosoma bacteriano circular, compuesto de aproximadamente 5×10^6 bp de DNA procede desde un ori único. Este proceso se completa en alrededor de 30 minutos, un índice de replicación de 3×10^5 bp/min. El genoma de mamífero completo se replica en aproximadamente 9 horas, el periodo promedio requerido para la formación de un genoma tetraploide a partir de un genoma diploide en una célula en replicación. Si un genoma de mamífero (3×10^9 bp) se replica al mismo índice que en las bacterias (es decir, 3×10^5 bp/min) a partir de un ori único, la replicación tardaría ¡más de 150 horas! Los organismos metazoarios sortean este problema usando dos estrategias. En primer lugar, la replicación es bidireccional. En segundo lugar, la replicación procede desde orígenes múltiples en cada cromosoma (un total de hasta 100 en seres humanos). De esta manera, la replicación se produce en ambas direcciones a lo largo de todos los cromosomas, y ambas cadenas se replican a la vez. Este proceso de replicación genera **"burbujas de replicación"** (**figura 35-17**).

Los múltiples sitios que sirven como orígenes para la replicación de DNA en eucariotas están poco definidos, excepto en algunos virus de animales, y en levaduras. Con todo, está claro que el inicio está regulado en los aspectos tanto espacial como temporal, puesto que agrupaciones de sitios adyacentes inician la replicación de modo sincrónico. La activación de la replicación, o el inicio de la replicación de DNA en un replicador/ori, está influida por varias propiedades bien determinadas de la estructura de cromatina, que apenas están empezando a entenderse. Aun así, está claro que hay más replicadores y ORC excesivo que los necesarios para replicar el genoma de mamíferos dentro del tiempo de una fase S típica; por ende, debe haber mecanismos para controlar el exceso de replicadores unidos a ORC. El entendimiento del control de la formación de complejos de replicación y la activación de los mismos es uno de los principales desafíos en este campo.

Durante la replicación de DNA, debe haber una separación de las dos cadenas para permitir que cada una sirva como una plantilla al unir con hidrógeno sus bases nucleótido al desoxinucleótido trifosfato que está entrando. La separación de las cadenas de DNA es promovida por SSB en *E. coli*, una proteína llamada **proteína de replicación A (RPA) en eucariotas**; estas moléculas estabilizan la estructura monocatenaria a medida que progresa la horquilla de replicación. Las proteínas estabilizantes se unen de manera cooperadora y estequiométrica a las cadenas únicas sin interferir con las capacidades de los nucleótidos para servir como plantillas (figura 35-13). Además de separar las dos cadenas de la doble hélice, debe haber un desenrollado de la molécula (1 vez cada 10 pares de nucleótidos) para permitir la separación de cadena. El complejo proteínico de DNA β hexamérico desenrolla DNA en *E. coli*, mientras que el complejo de MCM hexamérico desenrolla el DNA eucariótico. Este desenrollado ocurre en segmentos adyacentes a la burbuja de replicación; para contrarrestarlo hay múltiples "uniones giratorias" entremezcladas en las moléculas de DNA de todos los organismos. La función de giro es proporcionada por enzimas específicas que introducen **"muescas" en una cadena de la doble hélice que se está desenrollando**, lo que permite que proceda el proceso de desenrollado. Las muescas se vuelven a sellar con rapidez y sin requerir ingreso de energía, debido a la formación de un enlace covalente de alta energía entre el esqueleto de fosfodiéster que tiene la muesca y la enzima de resellado de muescas; este último tipo de enzima recibe

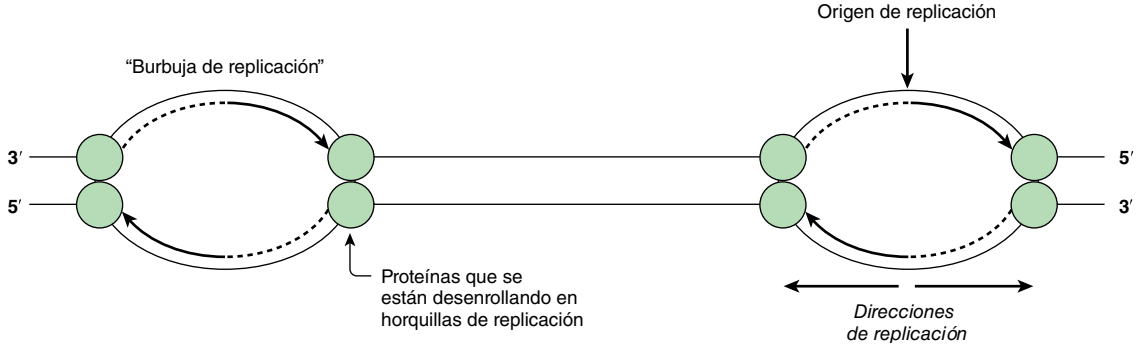


FIGURA 35-17 La generación de "burbujas de replicación" durante el proceso de síntesis de DNA. Se describen la replicación bidireccional y las posiciones propuestas de proteínas que se están desenrollando en las horquillas de replicación.

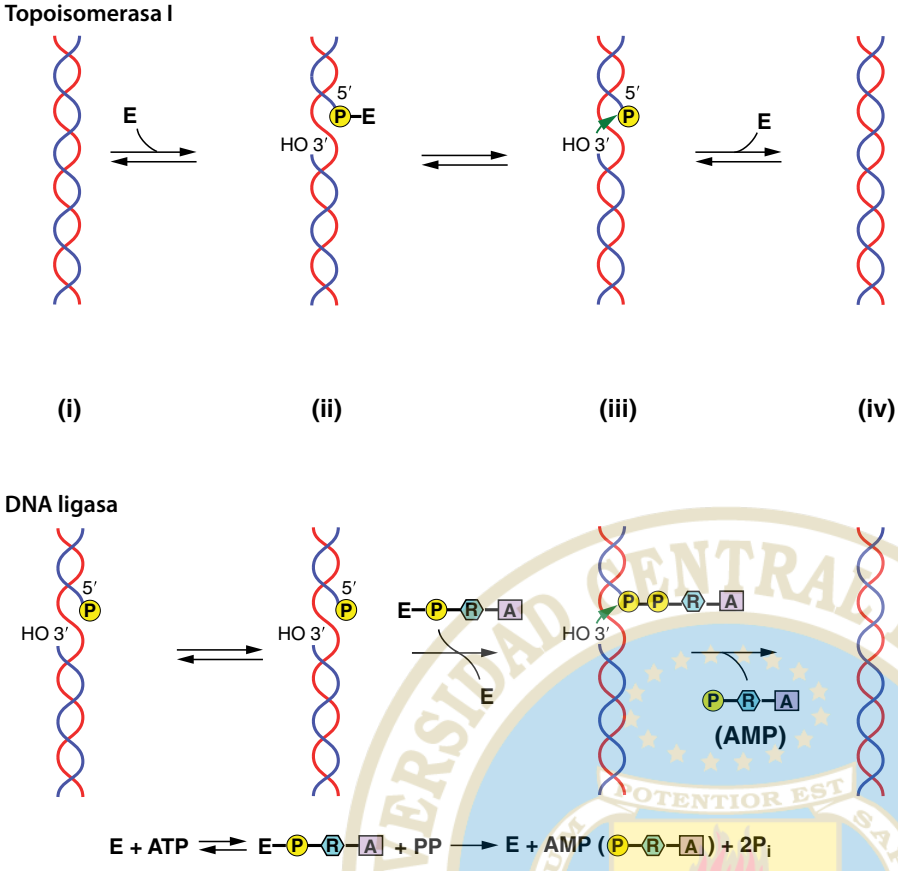


FIGURA 35-18 Dos tipos de reacciones de sellado de muescas de DNA. Se representan dos formas de sellado de muesca; estos procesos proceden en cuatro pasos (i) → (iv). Las enzimas involucradas se denotan por **E** (arriba, abajo), mientras que los reactivos y productos de molécula pequeña se indican como fosfato **(P)**; pirofosfato **(PP)**, fosfato inorgánico (**Pi**; generado a partir de PP por la acción de pirofosfatasas omnipresentes), ribosa **(R)** y adenina **(A)**. La reacción de sellado de muesca en la parte superior es catalizada por DNA a topoisomerasa I, y es independiente de energía de ATP porque la energía para la reformación de enlaces fosfodiéster de DNA es almacenada dentro de la unión covalente de topoisomerasa a DNA (**-P-E**; arriba) como se muestra por el ataque nucleofílico del grupo OH 3′ (flecha verde, paso iii) al fosfato del complejo P-E. La reacción de sellado de muesca catalizada por DNA ligasa (abajo) repara roturas en el esqueleto fosfodiéster de DNA que se producen por replicación del DNA y/o reparación del DNA. La reacción de DNA ligasa completa requiere hidrólisis de dos de los enlaces fosfodiéster de alta energía del ATP. Se describe el esquema de la reacción general de la DNA ligasa desde enzima libre, pasando por activación de enzima que libera pirofosfato **(PP)**, hasta la liberación de enzima libre y liberación de AMP (abajo; como se mencionó, el PP es convertido con rapidez en 2 moles de Pi por la acción de pirofosfatasas omnipresentes). La ligasa activada (E-P-R-A) reacciona con el P 5′ en el sitio de la muesca para formar un complejo de **DNA-P-P-R-A(P-R-A=AMP)** transitorio que libera la enzima, E. El ataque nucleofílico del grupo OH 3′ libre con el P 5′ del complejo de DNA-P 5′-AMP (flecha verde, paso III) vuelve a sellar la muesca y libera AMP. La reacción enzimática general que convierte DNA con muesca en DNA intacto (E + ATP → E + AMP + 2 Pi) es esquematizada en la parte inferior de la figura.

el nombre de **DNA topoisomerasas**. Dicho proceso se describe en un diagrama en la **figura 35-18**, y ahí se compara con el resellado dependiente de ATP llevado a cabo por las DNA ligasas. Las topoisomerasas también tienen la capacidad de desenrollar DNA superenrollado; éste es una estructura de orden superior que se encuentra en moléculas de DNA circulares envueltas alrededor de un centro (**figuras 35-2** y **35-19**).

En una especie de virus de animales (retrovirus) hay una clase de enzimas capaz de sintetizar una molécula de DNA monocatenaria y después una bicatenaria a partir de una plantilla de RNA monocatenario. Esta polimerasa, la DNA polimerasa dependiente de RNA, o **"transcriptasa inversa"**, sintetiza primero una molécula híbrida de DNA-RNA utilizando el genoma de RNA como una plantilla. Una nucleasa codificada por virus específica, la **RNasa H**, degrada a la cadena de RNA plantilla hibridada y la cadena de DNA restante, a su vez, sirve como una plantilla para formar una molécula de dsDNA que contiene la información originalmente presente en el genoma RNA del virus de animal.

Reconstitución de la estructura de cromatina

Hay evidencia de que la organización nuclear y la estructura de cromatina están involucradas en la determinación de la regulación y el inicio de la síntesis de DNA. Como se comentó, el índice de polimerización en células eucarióticas, que tienen cromatina y nucleosomas, es más lento que el que se observa en células procariotas, que carecen de cromosomas canónicos. También está claro que la estructura de cromatina debe volver a formarse luego

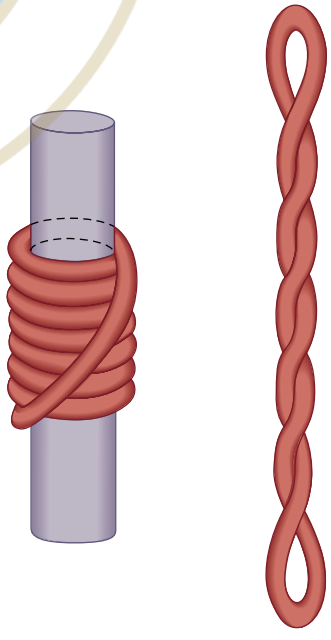


FIGURA 35-19 Superenrollamiento de DNA. Una superhélice toroidal siniestra (solenoidal), a la izquierda, se convertirá en una superhélice diestra que gira sobre sí misma, a la derecha, cuando se elimina el centro cilíndrico. Esa transición es análoga a la que se produce cuando los nucleosomas se alteran mediante la extracción de histonas desde la cromatina en un medio con concentración alta de sal.

de la replicación. El DNA recién replicado se monta con rapidez hacia nucleosomas, y los octámeros de histonas preexistentes y recién montados se distribuyen al azar hacia cada brazo de la horquilla de replicación. Estas reacciones se facilitan mediante las acciones de proteínas chaperón de histona que trabajan conjuntamente con complejos remodeladores de cromatina.

El DNA se sintetiza durante la fase S del ciclo celular

En células de animales, incluso células de humanos, el genoma de DNA sólo se replica en un momento especificado en el transcurso del lapso de vida de las células. Este periodo se llama la **fase sintética** o **S**. Esto por lo general está separado temporalmente de la **fase mitótica** o fase **M**, por periodos no sintéticos denominados **fases gap 1 (G_1)** y **gap 2 (G_2)**, que ocurren antes y después de la fase S, respectivamente (**figura 35-20**). Entre otras cosas, la célula se prepara para la síntesis de DNA durante G_1, y para la mitosis durante G_2. La célula regula el proceso de síntesis de DNA al permitir que únicamente suceda una vez por ciclo celular y sólo en momentos específicos y en su mayor parte en células que se están preparando para dividirse por medio de un proceso mitótico.

Todas las células eucarióticas tienen productos de gen que rigen la transición desde una fase del ciclo celular hacia la otra. Las **ciclinas** son una familia de proteínas cuya concentración se incrementa y disminuye en momentos específicos, esto es, en el "ciclo" durante el ciclo celular (de ahí su nombre). Las ciclinas activan, en el momento apropiado, diferentes **proteína cinasas dependientes de ciclina** (**CDK**) que fosforilan sustratos esenciales para la progresión por el ciclo celular (**figura 35-21**). Por ejemplo, Las cifras de ciclina D aumentan al final de la fase G_1 y permiten la progresión más allá del punto de **inicio (levadura)** o **de restricción (mamíferos)**, donde las células proceden de modo irrevocable hacia la fase S o de síntesis de DNA.

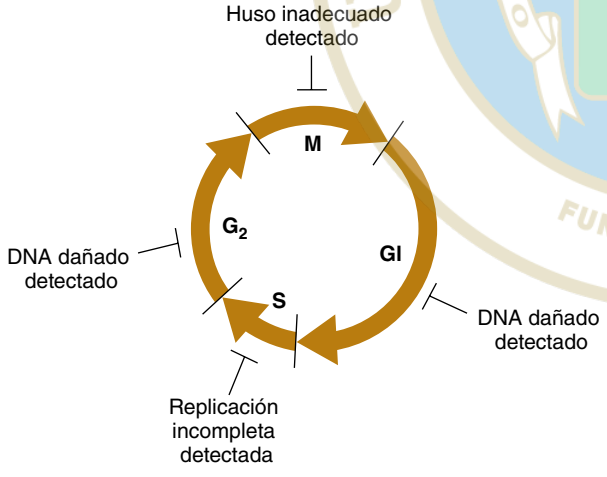


FIGURA 35-20 El progreso por el ciclo celular de mamífero es continuamente vigilado por medio de múltiples puntos de control del ciclo celular. La integridad del DNA, los cromosomas y la segregación de cromosomas es vigilada continuamente durante todo el ciclo celular. Si se detecta daño del DNA en la fase G_1 o G_2 del ciclo celular, si el genoma se replica de manera incompleta, o si la maquinaria de segregación de cromosomas normal es incompleta (esto es, un huso defectuoso), las células no progresarán por la fase del ciclo en la cual se detectaron defectos. En algunos casos, si es imposible reparar el daño, esas células pasan por muerte celular programada (apoptosis). Note que las células pueden salir de manera reversible del ciclo celular durante G1, y entrar a un estado no replicativo llamado G_0 (no se muestra, pero véase la figura 9-8). Cuando ocurre en señales/condiciones apropiadas, las células vuelven a entrar en G_1 y progresan normalmente por el ciclo celular, como se describe.

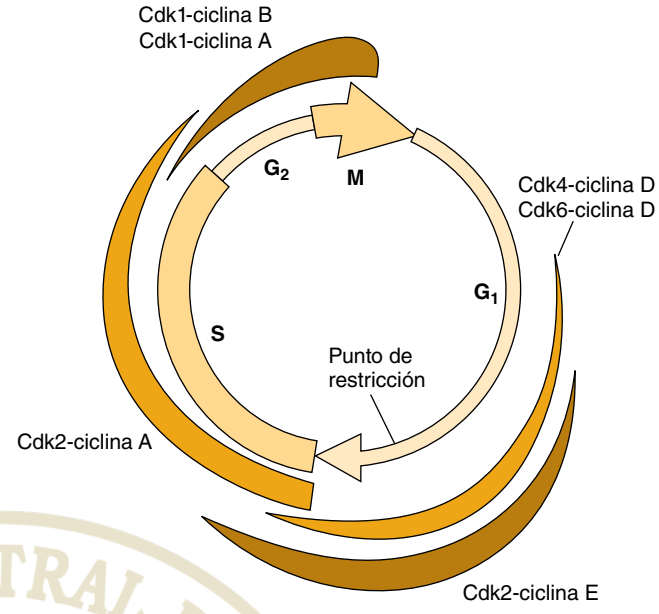


FIGURA 35-21 Ilustración esquemática de los puntos en el transcurso del ciclo celular de mamífero, durante los cuales se activan las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclina indicadas. El grosor de las diversas líneas en color ilustra la extensión de la actividad.

Las ciclinas D activan CDK4 y CDK6; estas dos cinasas también se sintetizan en el transcurso de G_1 en células que se están dividiendo de manera activa. Las ciclinas D y CDK4 y CDK6 son proteínas nucleares que se montan como un complejo al final de la fase G_1. El complejo ciclina-CDK es ahora una serina-treonina proteína cinasa activa. Un sustrato para esta cinasa es la proteína de retinoblastoma (Rb). La Rb es un regulador del ciclo celular porque se une a, y desactiva, un factor de transcripción (E2F) necesario para la transcripción de ciertos genes (genes que codifican para histona, proteínas de replicación de DNA, etc.) necesarios para la progresión desde la fase G_1 hacia la S. La fosforilación de Rb por CDK4 o CDK6 produce liberación de E2F desde Rb por represión de la transcripción mediada por Rb; de este modo, surge activación de gen, y tiene lugar progresión del ciclo celular.

Otras ciclinas y CDK participan en diferentes aspectos de la progresión del ciclo celular (**cuadro 35-7**). La ciclina E y la CDK2

CUADRO 35-7 Ciclinas y cinasas dependientes de ciclina involucradas en la progresión del ciclo celular

Ciclina	Cinasa	Función
D	CDK4, CDK6	Progresión más allá del punto de restricción en el límite G_1/S
E, A	CDK2	Inicio de las síntesis de DNA en la fase S temprana
B	CDK1	Transición desde G_v hacia M

forman un complejo al final de G_1. La ciclina E se degrada con rapidez, y la CDK2 liberada a continuación forma un complejo con la ciclina A. Esta secuencia es necesaria para el inicio de la síntesis de DNA durante la fase S. Un complejo entre ciclina B y CDK1 es limitante para la transición G_2/M en células eucarióticas.

Muchos de los virus que ocasionan cáncer (oncovirus) y de los genes que inducen cáncer (oncogenes) tienen la capacidad para aliviar o alterar la restricción manifiesta que normalmente controla la entrada de células de mamífero desde la fase G_1 hacia la S. Con base en lo anterior, podría haberse conjeturado que la producción excesiva de una ciclina, la pérdida de un inhibidor de CDK específico (véase más adelante), o la producción o activación de una ciclina/CDK en un momento inapropiado podría traducirse en división celular anormal o irrestricta. En este contexto cabe hacer notar que el oncogén *bcl* vinculado con el linfoma de células B parece ser el gen que codifica para la ciclina D1. De modo similar, las oncoproteínas (o proteínas transformadoras) producidas por varios virus DNA establecen como objetivo el represor de la transcripción Rb para desactivación, lo que induce división celular de manera inapropiada, mientras que la desactivación de Rb, que por sí mismo es un gen supresor tumoral, lleva a crecimiento celular descontrolado y formación de tumores.

En el transcurso de la fase S, las células de mamífero contienen cantidades más grandes de DNA polimerasa que durante las fases no sintéticas del ciclo celular. Más aún, también hay incremento de la actividad de las enzimas de las cuales depende la formación de los sustratos para la síntesis de DNA (es decir, desoxirribonucleósido trifosfatos) y su actividad disminuirá luego de la fase sintética en tanto no reaparezca la señal para síntesis renovada de DNA. En el transcurso de la fase S, **el DNA nuclear se replica por completo una vez y sólo una vez**. Una vez que la cromatina se ha replicado, se marca de manera que se impida su replicación adicional en tanto no pase otra vez por mitosis. Este proceso se denomina emisión de licencia para la replicación. Los mecanismos moleculares para este fenómeno parecen comprender disociación, o fosforilación de ciclina-CDK, o ambas, y degradación subsiguiente de varias proteínas de unión a origen que desempeñan funciones cruciales en la formación de complejo de replicación. En consecuencia, los orígenes sólo se activan una vez por cada ciclo celular.

En general, un par dado de cromosomas se replican de manera simultánea y dentro de una porción fija de la fase S en el momento de cada replicación. En un cromosoma, agrupaciones de unidades de replicación se replican de modo coordinado. Se desconoce la naturaleza de las señales que regulan la síntesis de DNA a estos niveles, pero la regulación parece ser una propiedad intrínseca de cada cromosoma individual que está mediada por los varios orígenes de replicación contenidos ahí.

Todos los organismos contienen mecanismos complejos, conservados desde el punto de vista evolutivo, para reparar DNA dañado

La reparación de DNA dañado es crucial para mantener la integridad genómica y, así, evitar la propagación de mutaciones, sea de modo horizontal, es decir, cambios de secuencia de DNA en células somáticas, o vertical, en la cual lesiones no reparadas están presentes en el DNA de espermatozoide o de ovocito y, por ende, pueden transmitirse a la progenie. El DNA queda sujeto a diario a una enorme gama de lesiones de origen químico, físico y biológico (**cuadro 35-8**), de ahí que el reconocimiento de lesiones del DNA y la reparación de las mismas sea esencial. En consecuencia, las células eucariontes contienen cinco vías principales de reparación del DNA, cada una de las cuales contiene múltiples proteínas a veces compartidas; estas proteínas de reparación del DNA típicamente tienen ortólogos en procariontes. Los mecanismos de reparación del DNA son las vías de reparación: **reparación por escisión de nucleótido** (**NER**); **reparación de errores de emparejamiento** (MMR); **reparación por escisión de bases** (**BER**); **recombinación homóloga** (**HR**) y **unión de extremo no homólogo** (**NHEJ**) (**figura 35-22**). La naturaleza ha efectuado el experimento de probar la importancia de muchas de estas proteínas de reparación del DNA para las características biológicas del humano —las mutaciones en un gran número de estos genes llevan a enfermedad de humanos (**cuadro 35-9**) (capítulo 39)—. Más aún, experimentos dirigidos a gen sistemáticos con ratones de laboratorio también han atribuido claramente a estos genes funciones cruciales de mantenimiento de la integridad del gen. En estudios de genética de ratones, se observó que de hecho las mutaciones dirigidas dentro de estos genes inducen defectos de la reparación del DNA, mientras que a menudo también aumentan de manera notoria la susceptibilidad a cáncer.

Uno de los mecanismos de reparación de DNA estudiados de manera más intensiva es el mecanismo que se usa para reparar **roturas bicatenarias de DNA** (**DSB**); lo que se comenta con cierto detalle aquí. Las células eucariontes utilizan dos vías, **HR** y **NHEJ**, para eliminar DSB. La elección entre las dos depende de la fase del ciclo celular (figuras 35-20 y 35-21) y del tipo exacto de DSB que va a repararse (cuadro 35-8). Durante las fases G_0/G_1 del ciclo celular, las DSB son corregidas mediante la vía NHEJ, mientras que durante las fases S, y G2/M del ciclo celular, se utiliza HR. Todos los pasos de la reparación del daño del DNA son catalizados por moléculas evolutivamente conservadas, que incluyen **detectores de daño de DNA**, **transductores** y **mediadores de reparación del daño**. En conjunto, estas cascadas de proteínas participan en la respuesta celular al daño del DNA. Es impor-

CUADRO 35-8 Tipos de daño del DNA

I.	Alteración de base única
	A. Despurinación
	B. Desaminación de citocina a uracilo
	C. Desaminación de adenina a hipoxantina
	D. Alquilación de base
	E. Incorporación de análogo de base
II.	Alteración de dos bases
	A. Dímero de timina-timina (pirimidina) inducido por luz UV
	B. Entrecruzamiento por agente alquilante bifuncional
III.	Roturas de cadena
	A. Radiación ionizante
	B. Desintegración radiactiva de elemento de esqueleto
	C. Formación de radical libre oxidativo
IV.	Entrecruzamiento
	A. Entre bases en la misma cadena o en cadenas opuestas
	B. Entre DNA y moléculas de proteína (p. ej., histonas)

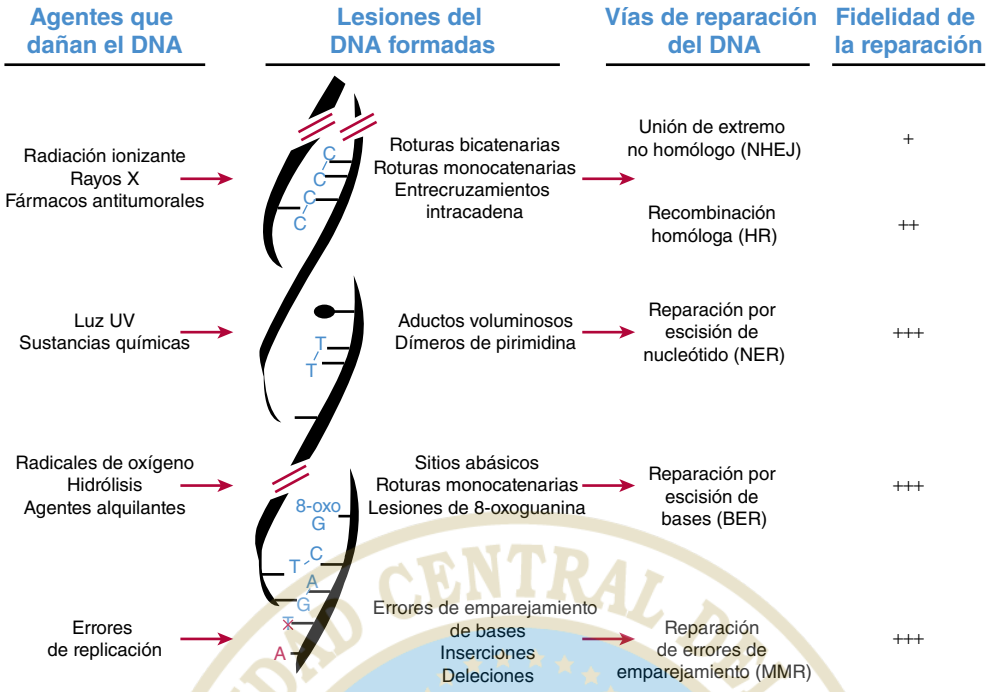


FIGURA 35-22 Los mamíferos usan múltiples vías de reparación del DNA, de exactitud variable, para reparar las muchísimas formas de daño del DNA a las cuales está sujeto el DNA genómico. Se listan los principales tipos de agentes que dañan el DNA, las lesiones del DNA así formadas (esquematizados y listadas), la vía de reparación del DNA que se encarga de reparar las diferentes lesiones, y la fidelidad relativa de estas vías. (Modificado, con autorización, de "DNA-Damage Response in Tissue-Specific and Cancer Stem Cells" *Cell Stem Cell* 8:16-29 (2011) copyright © 2011 Elsevier Inc).

CUADRO 35-9 Enfermedades por defectos de reparación del daño del DNA de humanos

Reparación por unión de extremo no homólogo (NHEJ) defectuosa
Enfermedad de inmunodeficiencia combinada grave (SCID)
Enfermedad de inmunodeficiencia combinada grave sensible a la radiación (RS-SCID)
Reparación homóloga (HR) defectuosa
Trastorno tipo AT (ATLD)
Síndrome de rotura de Nijmegen (NBS)
Síndrome de Bloom (BS)
Síndrome de Werner (WS)
Síndrome de Rothmund Thomson (RTS)
Susceptibilidad a cáncer mamario 1 y 2 (BRCA1, BRCA2)
Reparación por escisión de nucleótido (NER) de DNA defectuoso
Xeroderma pigmentoso (XP)
Síndrome de Cockayne (CNC)
Tricotiodistrofia (TTD)
Reparación por escisión de base (BER) de DNA defectuoso
Poliposis asociada a MUTYH (MAP)
Reparación de errores de emparejamiento (MMR) de DNA defectuoso
Cáncer colorrectal hereditario sin poliposis (HNPCC)

tante que los resultados celulares finales del daño del DNA, y los intentos celulares por reparar el daño del DNA, varían desde **retraso del ciclo celular** para permitir que haya reparación del DNA; **paro del ciclo celular**, hasta **apoptosis** o **senescencia** (**figura 35-23**; detalles más adelante). Las moléculas involucradas en estos procesos complejos y altamente integrados varían desde modificaciones de histona específicas para daño (esto es, lisina dimetilada 20 histona H4; H4K20me2) y la incorporación de variantes de isotipo de histona, como histona **H2AX** (cuadro 35-1), poli ADP ribosa polimerasa, **PARP**, el complejo proteínico MRN (subunidades Mre11-Rad50-NBS1), hasta proteínas de reconocimiento/emisión de señales de cinasa activadas por daño de DNA (**ATM** [ataxia telangiectasia, mutada] y cinasa relacionada con ATM, **ATR**, la proteína cinasa dependiente de DNA de múltiples subunidades [**DNA-PK y Ku70/80**], y cinasas de punto de control 1 y 2 [**CHK1, CHK2**]). Estas cinasas múltiples fosforilan y, en consecuencia, modulan las actividades de docenas de proteínas, como muchas proteínas de reparación de DNA, de verificación de punto de control, y de control del ciclo celular, como CDC25A, B, C, Wee1, p21, p16 y p19 (todas reguladores de ciclina-CDK [figura 9-8 y véase más adelante]; diversas exonucleasas y endonucleasas; proteínas de unión a DNA específicas para cadena única de DNA [RPA]; PCNA y DNA polimerasas específicas [DNA pol delta, δ, y eta, η]). Varios de estos (tipos) de proteínas/enzimas se han comentado antes en el contexto de la replicación del DNA. La reparación del DNA y su relación con el control del ciclo celular son áreas de investigación muy activas dados los papeles fundamentales en la biología celular y el potencial para generar cáncer y para prevenirlo.

La integridad del DNA y de cromosomas se monitorea de principio a fin del ciclo celular

Dada la importancia de la función normal del DNA y de los cromosomas para la supervivencia, no sorprende que las células

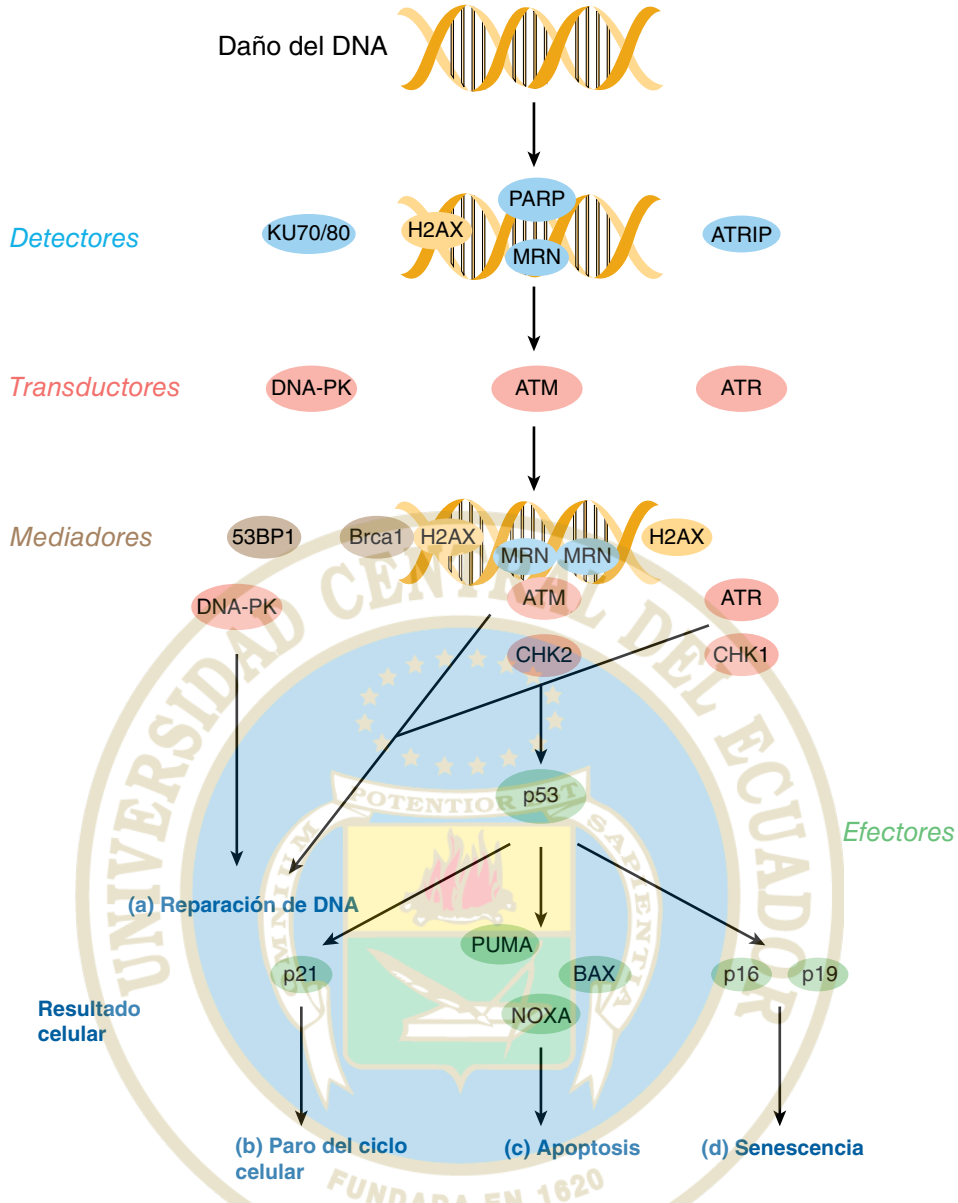


FIGURA 35-23 Mecanismo de múltiples pasos de reparación de rotura bicatenaria de DNA. De arriba abajo se muestran las proteínas (complejos proteínicos) que: identifican DSB en el DNA genómico (detectores), transducen el daño de DNA reconocido y lo amplifican (transductores y mediadores), así como las moléculas que dictan los resultados finales de la respuesta al daño del DNA (efectores). El DNA dañado puede: (a) ser reparado directamente (reparación de DNA), o, por medio de vías mediadas por p53, y dependiendo de la gravedad del daño del DNA y de los genes activados por p53 inducidos, (b), las células pueden ser detenidas en el ciclo celular por p21/WAF1, el potente inhibidor del complejo de CDK-ciclina para permitir que haya tiempo para que el DNA extensamente dañado sea reparado, o (c) y (d) si el daño del DNA es demasiado extenso como para que se repare, las células pueden entrar en apoptosis o en senescencia; estos dos procesos evitan que la célula que contiene ese DNA dañado alguna vez se divida y, por ende, que induzca cáncer u otros resultados biológicos perjudiciales. (Basado en: "DNA Damage Response in Tissue-Specific and Cancer Stem Cells"*Cell Stem Cell* 8:16-29 (2011) copyright © 2011 Elsevier Inc.).

eucarióticas hayan creado mecanismos complejos para monitorear la integridad del material genético. Como se detalló, varios sistemas de enzimas de múltiples subunidades, complejos, han aparecido por evolución para reparar DNA dañado en el ámbito de secuencia de nucleótido. De modo similar, los percances de DNA en el ámbito de cromosoma también se monitorean y reparan. La integridad tanto del DNA como de los cromosomas se monitorea de manera continua durante todo el ciclo celular (figura 35-20). Los cuatro pasos específicos en los cuales ocurre este monitoreo se han llamado **puntos de control**. Si se detectan problemas en alguno de estos puntos, la progresión por el ciclo se interrumpe, y el tránsito por el ciclo celular se suspende en tanto no se repara el daño. Los mecanismos moleculares que fundamentan la detección del daño de DNA en el transcurso de las fases G_1 y G_2 del ciclo se entienden mejor que los que operan durante las fases S y M.

El **supresor tumoral p53**, una proteína de peso molecular de 53 kDa aparente en SDS-PAGE, desempeña un papel clave en la verificación del punto de control tanto de G_1 como de G_2. Normalmente una proteína muy inestable, p53 es un factor de transcripción de unión a DNA, **una de una familia de proteínas relacionadas (esto es, p53, p63 y p73)**, que de algún modo se estabiliza en respuesta a daño de DNA, quizá por interacciones p53-DNA directas. Al igual que las histonas antes comentadas, p53 está sujeta a una panoplia de PTM reguladoras, todas las cuales probablemente modifican sus múltiples actividades biológicas. Las concentraciones incrementadas de p53 activan la transcripción de un montaje de genes que sirven en conjunto para retrasar el tránsito por el ciclo. Una de estas proteínas inducidas, **p21, es un potente inhibidor de la CDK-ciclina (CKI)** que tiene la capacidad para inhibir con eficiencia la acción de todas las CDK. Está claro que la inhibición de las CDK suspenderá la progresión por el ciclo celular (figuras 35-19 y 35-20). Si el daño del DNA es demasiado extenso como para que se repare, las células afectadas sufren **apoptosis** (muerte celular programada) de una manera dependiente de p53. En este caso, p53 induce la activación de un conjunto de genes que inducen a apoptosis. Las células que carecen de p53 funcional no pasan por apoptosis en respuesta a cifras altas de radiación o de quimioterápicos activos en el DNA. Entonces, tal vez no sorprende que *p53* sea uno de los genes mutados con mayor frecuencia en cánceres de seres humanos (capítulo 56). De hecho, estudios de secuenciación genómica recientes de múltiples muestras de DNA tumoral sugieren que más de 80% de los cánceres de ser humano porta mutaciones de pérdida de función de p53. La investigación adicional sobre los mecanismos de manejo de punto de control resultará inestimable para la creación de opciones terapéuticas eficaces contra el cáncer.

RESUMEN

- El DNA en células eucarióticas se relaciona con diversas proteínas, lo que produce una estructura denominada cromatina.
- Gran parte del DNA se asocia con proteínas histona para formar una estructura llamada el nucleosoma, que consta de un octámero de histonas alrededor del cual se envuelven alrededor de 150 bp de DNA.
- Las histonas están sujetas a una gama extensa de modificaciones covalentes dinámicas que tienen importantes consecuencias reguladoras.
- Los nucleosomas y las estructuras de orden superior formadas a partir de ellos sirven para compactar el DNA.
- El DNA en regiones activas desde el punto de vista transcripcional es relativamente más sensible al ataque por nucleasa *in vitro*; algunas regiones, llamadas sitios hipersensibles, son excepcionalmente sensibles y a menudo se encuentra que contienen sitios de control de transcripción.
- El DNA muy activo en el aspecto transcripcional (los genes) suele estar agrupado en regiones de cada cromosoma. Dentro de estas regiones, los genes pueden estar separados por DNA inactivo en estructuras nucleosómicas. En muchas unidades de transcripción eucariotas (es decir, la parte de un gen que es copiada por la RNA polimerasa) a menudo consta de regiones de DNA codificadoras (exones) interrumpidas por secuencias interpuestas de DNA no codificador (intrones). Esto es particularmente cierto de los genes codificadores de mRNA.
- Después de la transcripción, durante el procesamiento del RNA, los intrones se eliminan, y los exones se ligan entre sí para formar el mRNA maduro que aparece en el citoplasma; este proceso se denomina empalme del RNA.
- El DNA en cada cromosoma se replica exactamente de acuerdo con las reglas de la formación de pares de bases en el transcurso de la fase S del ciclo celular.
- Cada cadena de la doble hélice se replica de modo simultáneo pero mediante mecanismos un poco diferentes. Un complejo de proteínas, incluso la DNA polimerasa, replica la cadena adelantada de manera continua en la dirección 5′ a 3′. La cadena retrasada se replica de modo discontinuo, en fragmentos cortos de 100 a 250 nucleótidos mediante la sintetización de polimerasa de DNA en la dirección $3' \rightarrow 5'$.
- La replicación de DNA es iniciada en sitios especiales llamados orígenes, u ori, y generan burbujas de replicación. Cada cromosoma contiene múltiples orígenes. Todo el proceso requiere alrededor de 9 h en una célula de ser humano típica, y sólo ocurre durante la fase S del ciclo celular.
- Diversos mecanismos en los que se emplean diferentes sistemas de enzimas reparan DNA celular dañado tras exposición de células a mutágenos químicos y físicos.
- Las células normales que contienen DNA imposible de reparar pasan por muerte celular programada.

REFERENCIAS

Blanpain C, Mohrin M, Sotiropoulou PA, *et al*: DNA-damage response in tissue-specific and cancer stem cells. Cell Stem Cell 2011;8:16-29.

Bohgaki T, Bohgaki M, Hakem R: DNA double-strand break signaling and human disorders. Genome Integr 2010;1:15-29.

Campbell RM, Tummino PJ: Cancer epigenetics drug discovery and development: the challenge of hitting the mark. J Clin Invest. 2014;124:64-69.

Campos EL, Reinberg D: Histones: annotating chromatin. Annu Rev Genet 2009;43:559-599.

Collas C, Lund EG, Oldenburg AR: Closing the (nuclear) envelope on the genone: how nuclear lamins interact with promoters and modulate gene expression. Bioessays 2013;6:75-83.

David CJ, Manley JL: Alternative pre-mRNA splicing regulation in cancer: pathways and programs unhinged. Genes Dev 2010;24:2343-2364.

Doolittle WF, Fraser P, Gerstein MB, *et al*. Sixty years of genome biology 2013;14:113. PMCID: PMC3663092.

Gerstein M: Genomics: ENCODE leads the way on big data. Nature 2012:489:208.

Hanahan D, Weinberg RA: Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011;144:646-674.

Krishnan KJ, Reeve AK, Samuels DC, *et al*: What causes mitochondrial DNA deletions in human cells? Nat Genet 2008;40:275-279.

Kurth I, O′Donnell M: New insights into replisome fluidity during chromosome replication. Trends Biochem Sci 2013;38:195-203.

Lander ES, Linton LM, Birren B, *et al*: Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001;409:860.

Luger K, Mäder AW, Richmond RK, *et al*: Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 1997;389:251-260.

Margueron R, Reinberg D: Chromatin structure and the inheritance of epigenetic information. Nat Rev Genet 2010;11:285-296.

Misteli T: The cell biology of genomes: bringing the double helix to life. Cell 2013;152:1209-1212.

Navarro FJ, Weston L, Nurse P: Global control of cell growth in fission yeast and its coordination with the cell cycle. Curr Opin Cell Biol 2012;24:833-837.

Nelson DL, Orr HT, Warren ST: The unstable repeats—three evolving faces of neurological disease. Neuron 2013;77:825-843.

O'Donnell M, Langston L, Stillman B: Principles and concepts of DNA replication in bacteria, archaea, and eukarya. Cold Spring Harb Perspect Biol 2013 Jul 1;5:a010108.

Ponicsan SL, Kugel JF, Goodrich JA: Genomic gems: SINE RNAs regulate mRNA production. Curr Opin Genet Develop 2010;20:149-155.

Pope BD, Gilbert DM: The replication domain model: regulating replicon firing in the context of large-scale chromosome architecture. J Mol Biol 2013;425:4690-4695.

Pouladi MA, Morton AJ, Hayden MR: Choosing and animal model for the study of Huntington's disease. Nat Rev Neurosci 2013;14:708-721.

Skene PJ, Henikoff S: Histone variants in pluripotency and disease. Development 2013;140:2513-2524.

Tanaka TU, Clayton L, Natsume T: Three wise centromere functions: see no error, hear no break, speak no delay. EMBO Rep 2013;14:1073-1083.

Venter JC, Adams MD, Myers EW, *et al*: The sequence of the human genome. Science 2002;291:1304-1351.

Voigt P, Tee WW, Reinberg D: A double take on bivalent promoters. Genes Dev 2013;27:1318-1338.

Zaidi SK, Young DW, Montecino M, *et al*: Bookmarking the genome: maintenance of epigenetic information. J Biol Chem 2011;286:18355-183561.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 36

Síntesis, procesamiento y modificación del RNA

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las moléculas involucradas en la síntesis de RNA, y el mecanismo de esta última.
- Explicar cómo las RNA polimerasas dependientes de DNA eucariontes, en colaboración con una gama de factores accesorios específicos, pueden transcribir de manera diferencial el DNA genómico para producir moléculas precursoras de mRNA específicas.
- Describir la estructura de precursores de mRNA eucariontes, que están altamente modificados.
- Apreciar el hecho de que casi todos los genes que codifican para mRNA de mamífero están interrumpidos por múltiples secuencias no codificadoras de proteína llamadas intrones, que están intercaladas entre las regiones codificadoras de proteína llamadas exones.
- Explicar qué puesto que el RNA de intrón no codifica para proteína; el RNA intrónico debe eliminarse de manera específica y exacta para generar mRNA funcionales a partir de las moléculas precursoras de mRNA en una serie de eventos moleculares precisos llamados empalme de RNA.
- Explicar los pasos y las moléculas que catalizan el empalme de mRNA, proceso que convierte las moléculas precursoras de mRNA con modificación terminal en mRNA que son funcionales para traducción.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La síntesis de una molécula de RNA a partir de DNA es un proceso complejo que incluye una enzima del grupo de las RNA polimerasas, y diversas proteínas relacionadas. Los pasos generales requeridos para sintetizar la transcripción primaria son inicio, alargamiento y terminación; se conoce más acerca del inicio. Han sido identificadas varias regiones de DNA (por lo general localizadas torrente arriba desde el sitio de inicio) y factores proteínicos que se unen a estas secuencias para regular el comienzo de la transcripción. Ciertos RNA (en especial el RNA mensajero (mRNA)) tienen lapsos de vida muy diferentes en una célula. Las moléculas de RNA que se sintetizan en células de mamífero se sintetizan como moléculas precursoras que tienen que procesarse hacia RNA maduro, activo. Es importante entender los principios básicos de la síntesis y el metabolismo del mRNA (RNA mensajero), porque la modulación de este proceso da por resultado índices alterados de síntesis de proteína y, así, diversos cambios tanto metabólicos como fenotípicos. De este modo, todos los organismos se adaptan a cambios del ambiente. También de esta manera se establecen y mantienen las estructuras y funciones celulares diferenciadas. Los errores o cambios de la síntesis, el procesamiento, el empalme, estabilidad o función de las transcripciones de mRNA producen enfermedades.

EL RNA EXISTE EN DOS CLASES PRINCIPALES

Todas las células eucariontes tienen dos clases principales de RNA (cuadro 36-1), los **RNA codificantes de proteína**, o RNA mensajeros **(mRNA)**, y dos formas de **RNA no codificantes de proteína**, abundantes, delineados con base en el tamaño: los RNA ribosomales **(rRNA)** grandes, y RNA no codificantes largos **(lncRNA)** y RNA no codificantes pequeños RNA de transferencia **(tRNA)**, los RNA nucleares pequeños (SNRNA), y los microRNA y RNA silenciadores (**miRNA** y **siRNA**). Los mRNA, rRNA y tRNA están directamente involucrados en la síntesis de proteína, mientras que los otros RNA participan en el empalme de mRNA (SnRNA) o la modulación de la expresión de gen al alterar la función (mi/SiRNA) y/o expresión (lncRNA) del mRNA. Estos RNA difieren en su diversidad, estabilidad y abundancia en las células.

CUADRO 36-1 Clases de RNA de eucariontes

RNA	Tipos	Abundancia	Estabilidad
RNA codificantes de proteína			
Mensajero (mRNA)	≥ 10^5 especies diferentes	2 a 5% del total	Inestable a muy estable
RNA no codificantes de proteína (ncRNA)			
ncRNA grandes			
Ribosomal (rRNA)	28S, 18S, 5.8S, 5S	80% del total	Muy estable
lncRNA	~ miles	~ 1% a 2%	Inestable a muy estable
ncRNA pequeños			
RNA de transferencia	~ 60 especies diferentes	~ 15% del total	Muy estable
Nuclear pequeño (snRNA)	~ 30 especies diferentes	≤ 1% del total	Muy estable
Micro/silenciadores (mi/siRNA)	Cientos a mil	< 1% del total	Estable

EL RNA SE SINTETIZA A PARTIR DE UNA PLANTILLA DE DNA POR UNA RNA POLIMERASA

Los procesos de síntesis de DNA y RNA son similares por cuanto comprenden: 1) los pasos generales del inicio, alargamiento y terminación con polaridad 5′ a 3′; 2) complejos de inicio de múltiples componentes, grandes, y 3) apego a las reglas de formación de pares de bases identificadas por Watson y Crick. Sin embargo, la síntesis de DNA y RNA difiere en varios aspectos importantes, entre ellos: 1) en la síntesis de RNA se usan ribonucleótidos en lugar de desoxirribonucleótidos; 2) la U reemplaza a la T como la base complementaria para A en el RNA; 3) la síntesis de RNA no incluye un iniciador, dado que las RNA polimerasas tienen la capacidad para iniciar la síntesis *de novo;* 4) sólo porciones del genoma se transcriben o copian de modo vigoroso hacia el RNA, mientras que todo el genoma debe copiarse, una vez y sólo una vez, durante la replicación del DNA, y 5) no hay una función de corrección de pruebas eficiente, muy activa, en el transcurso de la transcripción del RNA.

El proceso de la síntesis de RNA a partir de una plantilla de DNA se ha caracterizado mejor en procariotas. Aun cuando en células de mamífero la regulación de la síntesis de RNA y el procesamiento postranscripcional de RNA son diferentes de los que ocurren en procariotas, el proceso de síntesis de RNA en sí es bastante similar en estas dos clases de organismos. En consecuencia, la descripción de las síntesis de RNA en procariotas, en los cuales se entiende mejor, es aplicable a eucariotas aun cuando las enzimas comprendidas y las señales reguladoras, aunque vinculadas, son diferentes.

La cadena plantilla de DNA se transcribe

La secuencia de ribonucleótidos en una molécula de RNA es complementaria a la secuencia de desoxirribonucleótidos en una cadena de la molécula de DNA bicatenaria (figura 34-8). La cadena que se transcribe o copia hacia una molécula de RNA se denomina la **cadena plantilla** del DNA: la otra cadena del DNA, la **cadena no plantilla,** suele llamarse la **cadena codificadora** de ese gen. Se denomina así porque, con la excepción de cambios de T por U, corresponde con precisión a la secuencia de la transcripción primaria de RNA mensajero, que codifica para el producto (proteína) del gen. En el caso de una molécula de DNA bicatenaria que contiene muchos genes, la cadena plantilla para cada gen no será necesariamente la misma cadena de la doble hélice de DNA (**figura 36-1**). De esta manera, una cadena dada de una molécula de DNA bicatenario servirá como la cadena plantilla para algunos genes y como la cadena codificadora para otros genes. Nótese que la secuencia de nucleótidos de una transcripción de RNA será la misma (excepto por U que reemplaza a T) que la de la cadena codificadora. La información en la cadena plantilla se lee en la dirección 3′ a 5′. Aun cuando no se muestra en la figura 36-1, hay casos de genes embebidos dentro de otros genes.

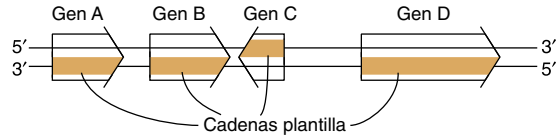


FIGURA 36-1 Los genes pueden transcribirse a partir de ambas cadenas de DNA. Las puntas de flecha indican la dirección de la transcripción (polaridad). Note que la cadena plantilla siempre se lee en la dirección 3′ a 5′. La cadena opuesta se llama la cadena codificadora porque es idéntica (salvo por cambios de T por U) a la transcripción de mRNA (la transcripción primaria en células eucarióticas) que codifica para el producto proteínico del gen.

La RNA polimerasa dependiente de DNA inicia la transcripción de un sitio distinto, el promotor

La RNA polimerasa dependiente de DNA es la enzima que se encarga de la polimerización de ribonucleótidos hacia una secuencia complementaria a la cadena plantilla del gen (**figuras 36-2** y **36-3**). La enzima se fija a un sitio específico (el promotor) sobre

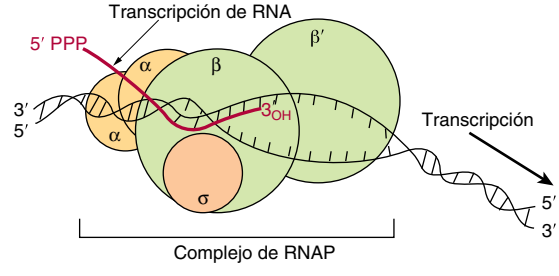


FIGURA 36-2 La RNA polimerasa cataliza la polimerización de ribonucleótidos hacia una secuencia de RNA que es complementaria a la cadena plantilla del gen. La transcripción de RNA tiene la misma polaridad (5′ a 3′) que la cadena codificadora, pero contiene U en lugar de T. La RNAP de *E. coli* consta de un complejo central de dos subunidades alfa y dos subunidades β (β y β′). La holoenzima contiene la subunidad σ unida al montaje central $\alpha_2\beta\beta'$. La subunidad ω no se muestra. La "burbuja" de transcripción es un área de aproximadamente 20 bp de DNA fusionado, y todo el complejo cubre 30 a 75 bp, dependiendo de la conformación de la RNAP.

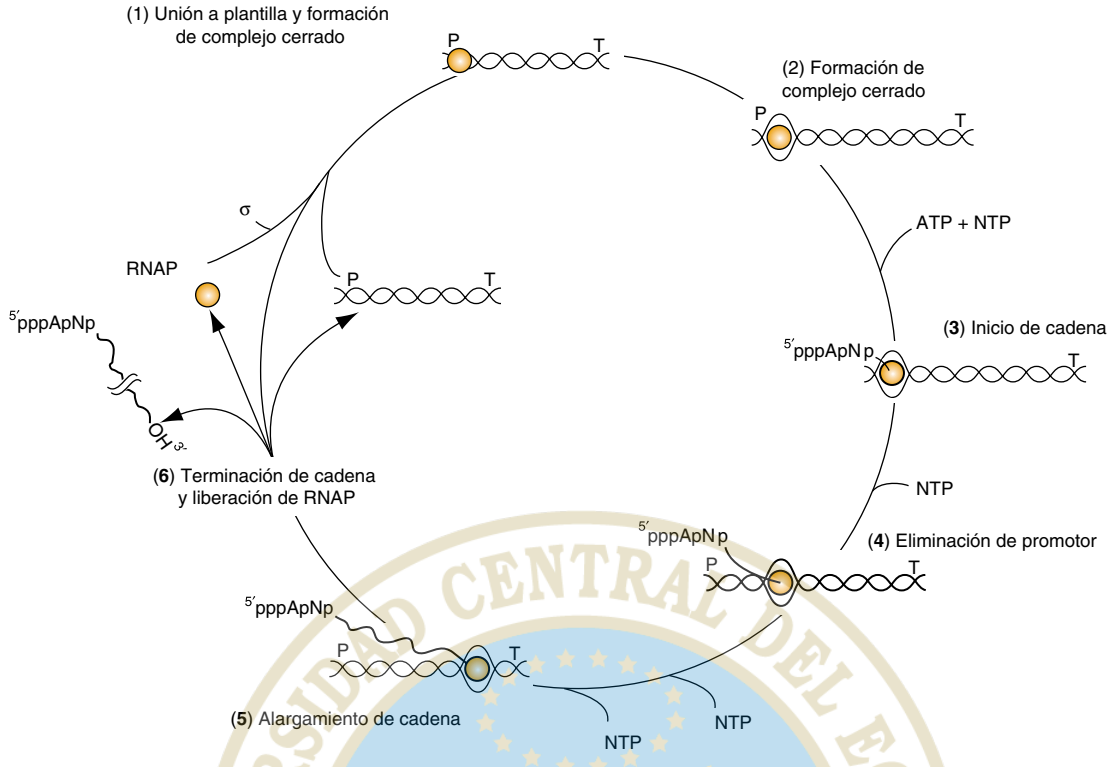


FIGURA 36-3 **El ciclo de transcripción.** La transcripción puede describirse en seis pasos: **1) unión a plantilla y formación del complejo de RNA polimerasa promotor cerrado:** la RNA polimerasa (RNAP) se une al DNA y después localiza un promotor **(P)**. **2) Formación del complejo de promotor abierto:** una vez unida al promotor, la RNAP fusiona las dos cadenas de DNA para formar un complejo promotor abierto; este complejo también se denomina el complejo de preinicio o PIC. La separación de cadena permite a la polimerasa tener acceso a la información codificadora en la cadena plantilla de DNA. **3) Inicio de cadena:** usando la información de codificación de la RNAP plantilla cataliza el acoplamiento de la primera base (a menudo una purina) al segundo ribonucleósido trifosfato, dirigido por plantilla, para formar un dinucleótido (en este ejemplo forma el dinucleótido 5′ $pppApN_{OH}$ 3′). **4) Eliminación del promotor:** después de que la longitud de la cadena de RNA alcanza ~ 10 a 20 nt, la polimerasa pasa por un cambio conformacional y entonces es capaz de alejarse del promotor, y transcribir la unidad de transcripción. **5) Alargamiento de cadena:** se añaden residuos sucesivos al 3′-OH terminal de la molécula de RNA naciente en tanto no se encuentra una señal de terminación de la transcripción **(T)**. **6) Terminación de la cadena y liberación de la RNAP:** cuando encuentra el sitio de terminación de la transcripción la RNAP pasa por otro cambio conformacional que lleva a liberación de la cadena de RNA completada, la plantilla de DNA y la RNAP. La RNAP puede volver a unirse a DNA empezando el proceso de búsqueda de promotor, y el ciclo se repite. Note que todos los pasos en el ciclo de transcripción son facilitados por proteínas adicionales, y de hecho a menudo están sujetos a regulación por factores de acción positiva, o negativa, o ambas.

la cadena plantilla. Esto va seguido por comienzo de la síntesis de RNA en el punto de inicio y el proceso continúa en tanto no se llega a una secuencia de terminación (figura 36-3). Una **unidad de transcripción** se define como la región del DNA que incluye las señales para el inicio, el alargamiento y la terminación de la transcripción. El producto RNA, que se sintetiza en la dirección 5′ a 3′, es el **transcrito primario**. La transcripción varía de un gen a otro, pero puede ser bastante alta. En la **figura 36-4** se presenta una micrografía electrónica de transcripción en acción. En procariotas, esto puede representar el producto de varios genes contiguos; en células de mamífero, regularmente representa el producto de un gen único. Los términos 5′ de la transcripción de RNA primaria y el RNA citoplásmico maduro son idénticos. De este modo, **el punto inicial de transcripción (TSS)** corresponde al nucleótido 5′ del mRNA; esto se designa posición +1, al igual que el nucleótido correspondiente en el DNA. Los números aumentan conforme la secuencia procede *torrente abajo* desde el sitio de inicio. Esta convención facilita localizar regiones particulares, como límites de intrón y exón. El nucleótido en el promotor adyacente al sitio de inicio de la transcripción en la dirección torrente arriba se designa −1, y estos números negativos se incrementan a medida que la secuencia procede *torrente arriba*, alejándose del TSS. El sistema numérico +/− proporciona una manera convencional de definir la ubicación de elementos reguladores en un gen.

Los transcritos primarios generados por la RNA polimerasa II (una de las tres RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares distintas en eucariotas) quedan cubiertas con el capuchón de 7-metilguanosina trifosfato (figura 34-10), que persisten y a la postre aparecen sobre el extremo 5′ de mRNA citoplásmico maduro. Estas cubiertas se requieren para el procesamiento subsiguiente de la transcripción primaria hacia mRNA, para la traducción del mRNA, y para la protección de mRNA contra ataque nucleolítico po 5′ exonucleasas.

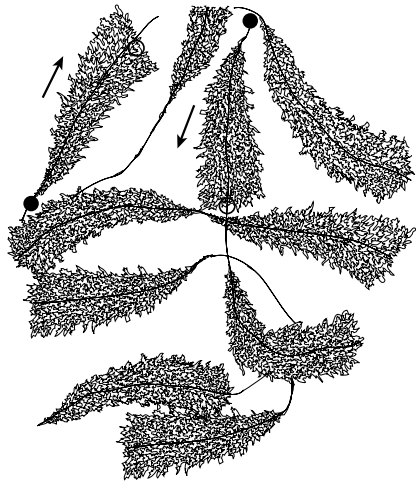


FIGURA 36-4 Representación esquemática de una fotomicrografía electrónica de múltiples copias de genes de rRNA de anfibio en el proceso de ser transcritos. El aumento es de alrededor de 6 000×. Note que la longitud de las transcripciones se incrementa conforme las moléculas de RNA polimerasa progresan a lo largo de los genes que codifican para rRNA individuales desde sitios de inicio de transcripción (círculos negros) hasta sitios de terminación de la transcripción (circunferencias). La RNA polimerasa I (que no se visualiza aquí) está en la base de las transcripciones de RNA naciente. De este modo, el extremo proximal del gen transcrito tiene transcripciones cortas fijas a él, mientras que transcripciones de mucho mayor tamaño están fijas al extremo distal del gen. Las flechas indican la dirección (5′ a 3′) de la transcripción.

La RNA polimerasa dependiente de DNA bacteriano es una enzima de múltiples subunidades

La **RNA polimerasa dependiente de DNA** básica (**RNAP**) de la bacteria *Escherichia coli* existe como un complejo central de alrededor de 400 kDa, que consta de dos subunidades α idénticas, similares a las subunidades β y β′, y una subunidad ω. La subunidad β se une a iones de Mg^{2+} y compone la subunidad catalítica (figura 36-2). El **complejo central de la RNA polimerasa**, **$\beta\beta'\alpha_2\omega$**, a menudo llamada **E**, se asocia con un factor proteínico específico (el **factor sigma** [**σ**]) para formar la **holoenzima**, **$\beta\beta'\alpha_2\omega\sigma$**, o **Eσ**.

La subunidad σ ayuda a la enzima central a reconocer y unirse a la región promotora (**figura 36-5**) para formar el **complejo de preinicio (PIC)**. En todas las especies bacterianas hay múltiples genes distintos que codifican para el factor σ. Los factores σ tienen una función doble en el proceso de reconocimiento de promotor; la asociación σ con la RNA polimerasa central disminuye su afinidad por el DNA en sitios no promotores, mientras que al mismo tiempo aumenta la afinidad de la holoenzima por el promotor en el DNA. Los múltiples factores σ compiten para interactuar con RNA polimerasa central limitante (E). Cada uno de estos factores σ actúa como una proteína reguladora que modifica la especificidad de reconocimiento del promotor de la holoenzima RNA polimerasa única resultante (es decir, $E\sigma_1$, $E\sigma_2$,...). La aparición de diferentes factores σ y su relación con el complejo central de la RNA polimerasa para formar nuevas formas de holoenzima $E\sigma_1$, $E\sigma_2$,..., puede correlacionarse temporalmente con diversos programas de expresión de gen en sistemas procarióticos, como esporulación, crecimiento en diversas fuentes con poco contenido de nutriente, y la respuesta a choque térmico.

Las células de mamífero poseen tres RNA polimerasas dependientes de DNA nuclear separadas

En el **cuadro 36-2** se describen algunas de las propiedades distintivas de las polimerasas nucleares de mamífero. Cada una de estas RNA polimerasas dependientes de DNA se encarga de la transcripción de diferentes grupos de genes. Los tamaños de las RNA polimerasas varían desde MW de 500 hasta 600 kDa. Estas enzimas muestran perfiles de subunidad más complejos que las RNA polimerasas de procariontes. Todas tienen dos subunidades grandes, que notoriamente tienen fuertes similitudes de secuencia y estructurales con las subunidades β y β′ procariontes, y varias subunidades más pequeñas (hasta 14 en el caso de la RNA pol III). Aún no se entienden por completo las funciones de cada una de las subunidades. Una toxina peptídica del hongo *Amanita phalloides*, α-amanitina, es un inhibidor diferencial específico de las RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares eucarióticas y, como tal, ha resultado ser un

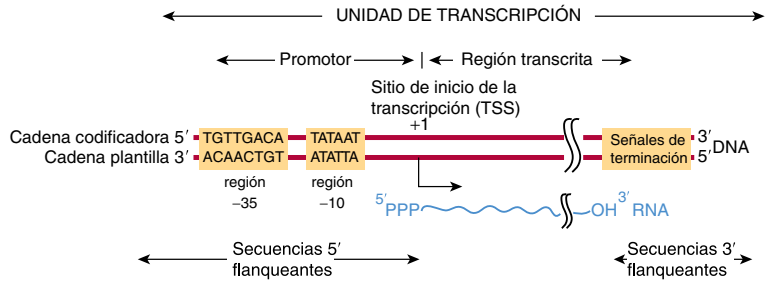


FIGURA 36-5 Los promotores procarióticos comparten dos regiones de secuencia de nucleótido altamente conservada. Estas regiones están situadas 35 y 10 bp torrente arriba del TSS, lo que se indica como +1. Por convención, todos los nucleótidos torrente arriba del sitio de inicio de la transcripción (en +1) se numeran en un sentido negativo y se denominan secuencias 5′-flanqueantes, mientras que las secuencias torrente debajo de +1 TSS se enumeran en un sentido positivo. También por convención, los elementos de secuencia reguladora de DNA promotor, como los elementos de secuencia -35 y TATA se describen en la dirección 5′-3′, y se dice que están en la cadena codificadora. Sin embargo, estos elementos sólo funcionan en DNA bicatenario. Empero, otros elementos reguladores de la transcripción a menudo pueden actuar de una manera independiente de la dirección, y esos elementos *cis* se dibujan en consecuencia en cualquier esquema (figura 36-8). Note que el transcrito producido a partir de esta unidad de transcripción tiene la misma polaridad o "sentido" (esto es, la orientación 5′-3′) que la cadena codificadora. Los elementos *cis* de terminación residen en el extremo de la unidad de transcripción (véanse más detalles en la figura 36-6). Por convención, las secuencias torrente abajo del sitio en el cual ocurre la terminación de la transcripción se denominan secuencias 3′-flanqueantes.

CUADRO 36-2 Nomenclatura y propiedades de RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares de mamífero

Forma de RNA polimerasa	Sensibilidad a la α-amanitina	Productos importantes
I	Insensible	rRNA
II	Sensibilidad alta	mRNA, miRNA, SnRNA
III	Sensibilidad intermedia	tRNA, rRNA 5s

potente instrumento de investigación (cuadro 36-2). La α-amanitina bloquea la translocación de la RNA polimerasa durante la formación de enlace fosfodiéster.

LA SÍNTESIS DE RNA ES UN PROCESO CÍCLICO E INVOLUCRA INICIO, ALARGAMIENTO Y TERMINACIÓN DE CADENA DE RNA

El proceso de síntesis de RNA en bacterias (figura 36-3) es cíclico y comprende múltiples pasos. Primero la holoenzima RNA polimerasa (Eσ) debe unirse al DNA y localizar un promotor (**P**; figura 36-3). Una vez que el promotor es localizado, el complejo de Eσ-DNA promotor pasa por un cambio conformacional dependiente de la temperatura, y desenrolla o funde el DNA que está en el sitio de inicio de la transcripción y alrededor del mismo (en +1). Dicho complejo se llama el complejo de preinicio, o PIC; este desenrollamiento permite que el sitio activo del Eσ tenga acceso a la cadena plantilla, que por supuesto dicta la secuencia de ribonucleótidos que va a polimerizarse hacia RNA. A continuación, el primer nucleótido (típicamente una purina, aunque no siempre) se asocia con el sitio de unión a nucleótido en la subunidad β de la enzima, y en presencia del siguiente nucleótido apropiado unido a la polimerasa, la RNAP cataliza la formación del primer enlace fosfodiéster, y la cadena naciente ahora está fija al sitio de polimerización en la subunidad β de la RNAP; esta reacción se llama **inicio**. Debe notarse la analogía con los sitios A y P en el ribosoma (figura 37-9, abajo). El dinucleótido naciente retiene el 5′-trifosfato del nucleótido iniciador (figura 36-3, ATP).

La RNA polimerasa sigue incorporando nucleótidos 3 a ~+10, punto en el cual la polimerasa pasa por otro cambio conformacional y se aleja del promotor; esta reacción se llama **eliminación de promotor**. A continuación empieza la **fase de alargamiento**, en la cual la molécula de RNA naciente crece 5′−3′ de forma consecutiva a la incorporación continua de NTP de manera cíclica, antiparalela a su plantilla. La enzima polimeriza los ribonucleótidos en la secuencia específica dictada por la cadena plantilla, e interpretada mediante las reglas de formación de pares de bases de Watson-Crick. Se libera pirofosfato después de cada ciclo de polimerización. Al igual que para la síntesis de DNA, este **pirofosfato** (PP_i) es degradado con rapidez a 2 mol de **fosfato inorgánico** (P_i) por medio de **pirofosfatasas** ahí presentes, lo que proporciona irreversibilidad a la reacción sintética general. La decisión: permanecer en el promotor en un estado equilibrado o detenido, o transición hacia alargamiento, parece ser un paso regulador importante en la transcripción de gen que codifica para mRNA tanto procarionte como eucarionte.

Conforme el complejo de **alargamiento** que contiene a la RNA polimerasa avanza a lo largo de la molécula de DNA, debe ocurrir **desenrollamiento de DNA** con el fin de proporcionar acceso para la formación de par de bases apropiada para los nucleótidos de la cadena codificadora. La extensión de esta burbuja de transcripción (esto es, desenrollamiento de DNA) es constante de principio a fin de la transcripción, y se ha estimado que es de aproximadamente 20 pares de bases por cada molécula de polimerasa (figura 36-2). Así, parece ser que el tamaño de la región de DNA desenrollado está dictado por la polimerasa y es independiente de la secuencia de DNA en el complejo. La RNA polimerasa tiene una actividad intrínseca de "desenrollasa" que abre la hélice de DNA (véase la formación de PIC arriba). El hecho de que la doble hélice de DNA deba desenrollarse, y las cadenas separarse al menos de manera transitoria para la transcripción, implica alguna alteración de la estructura del nucleosoma de células eucarióticas. La topoisomerasa precede y sigue a la RNAP que está progresando, a fin de evitar la formación de tensiones de superhélice que servirían para incrementar la energía necesaria para desenrollar el DNA plantilla adelante de la RNAP.

La **terminación** de la síntesis de la molécula de RNA en bacterias es señalada por una secuencia en la cadena plantilla de la molécula de DNA (una señal que es reconocida por una **proteína de terminación, el factor rho** [**ρ**]). Rho es una helicasa estimulada por RNA, dependiente de ATP, que altera el complejo de alargamiento de la transcripción ternario compuesto por RNA polimerasa-RNA naciente y DNA. En algunos genes, la RNA polimerasa bacteriana puede reconocer directamente **señales de terminación** codificadas por DNA (figura 36-3; **T**) sin la ayuda del factor rho. Después de que termina la síntesis del RNA, la enzima se separa de la plantilla de DNA, y se disocia a enzima central libre (E) y factor ρ libre. Con la ayuda de otro factor σ, la holoenzima Eσ reformada, a continuación reconoce otro promotor con lo cual comienza la síntesis de una nueva molécula de RNA. En células eucarióticas no se ha conseguido una comprensión plena de la terminación, pero las proteínas que catalizan el procesamiento, terminación y poliadenilación de RNA parecen cargarse sobre la RNAP (RNA polimerasa) II poco después del inicio (véase más adelante). Más de una molécula de RNA polimerasa puede transcribir de manera simultánea la misma cadena plantilla de un gen, pero el proceso está modulado por fases y espaciado de modo que en cualquier momento cada una está transcribiendo una parte diferente de la secuencia de DNA (figuras 36-1 y 36-4).

PROTEÍNAS UNIDAS A CIERTAS SECUENCIAS DE DNA CONTROLAN LA FIDELIDAD Y FRECUENCIA DE LA TRANSCRIPCIÓN

El análisis de la secuencia de DNA de genes específicos ha permitido el reconocimiento de varias secuencias importantes en la transcripción de gen. A partir del gran número de genes bacterianos estudiados, es posible construir modelos de consenso de señales de inicio y terminación de transcripción.

La pregunta "¿de qué manera la RNAP encuentra el sitio correcto para iniciar la transcripción?" no es trivial cuando se considera la complejidad del genoma. *E. coli* tiene 4×10^3 sitios

de inicio de transcripción (es decir, promotores de gen) en 4.2 $\times$ 10^6 pares de base (bp) de genoma. La situación es aún más compleja en humanos, en los cuales hasta 150 000 sitios de inicio de transcripción están distribuidos en 3 $\times$ 10^9 bp de DNA. La RNAP puede unirse, con baja afinidad, a muchas regiones de DNA, pero escanea la secuencia de DNA (a un índice de $\geq 10^3$ bp/s) en tanto no reconoce ciertas regiones específicas del DNA a las cuales se une con mayor afinidad. Estas regiones se denominan promotores, y es la asociación de RNAP con promotores lo que asegura el inicio exacto de la transcripción. El proceso de reconocimiento-utilización del promotor es el blanco para la regulación tanto en bacterias como en humanos.

Los promotores bacterianos son relativamente simples

Los promotores bacterianos tienen alrededor de 40 nucleótidos (40 bp o cuatro vueltas de la doble hélice de DNA) de largo, una región suficientemente pequeña como para que sea cubierta por una molécula de RNA holopolimerasa de *E. coli*. En un promotor de consenso hay dos elementos de secuencia cortos, conservados. Aproximadamente 35 bp torrente arriba del sitio de inicio de la transcripción hay una secuencia de consenso de ocho pares de nucleótidos (consenso: 5′-TGTTGACA-3′) a los cuales el RNAP se une para formar el llamado **complejo cerrado**. Más proximal al sitio de inicio de la transcripción (alrededor de 10 nucleótidos torrente arriba) hay una secuencia rica en A + T de seis pares de nucleótidos (consenso: 5′-TATAAT-3′). Juntos, estos elementos de secuencia conservados comprenden el promotor, y se muestran de modo esquemático en la figura 36-5. Esta última secuencia tiene una temperatura de fusión baja debido a su carencia de pares de nucleótido GC. De esta manera, se cree que la denominada **secuencia (o "caja") TATA** facilita la disociación de las dos cadenas de DNA de modo que la RNA polimerasa unida a la región promotora puede tener acceso a la secuencia de nucleótidos de su cadena plantilla inmediatamente torrente abajo. Una vez que sucede este proceso, la combinación de RNA polimerasa más promotor se llama el **complejo abierto.** Otras bacterias tienen secuencias de consenso un poco diferentes en sus promotores, pero en general todas tienen dos componentes para el promotor; éstos tienden a estar en la misma posición respecto al TSS y en todos los casos las secuencias entre los dos elementos promotores no tienen similitud pero todavía **proporcionan funciones de espaciamiento cruciales** que facilitan el reconocimiento de secuencias −35 y −10 por la holoenzima RNA polimerasa. Dentro de una célula bacteriana, diferentes grupos de genes suelen estar regulados de manera coordinada. Un modo importante en que se logra esto es por medio del hecho de que estos genes corregulados comparten secuencias promotoras −35 y −10 particulares. Estos promotores singulares son reconocidos por diferentes factores σ unidos a RNA polimerasa central (esto es, $E\sigma_1$, $E\sigma_2$,...).

Las **señales de terminación** de transcripción dependientes de rho en *E. coli* también parecen tener una secuencia de consenso separada (**figura 36-6**). Puede observarse que la secuencia de consenso conservada, que cuenta con unos 40 pares de nucleótidos de longitud, contiene una repetición invertida dividida en secciones o interrumpida, seguida por una serie de pares de bases AT. A medida que la transcripción procede por dicha repetición, la transcripción que se genera puede formar la estructura de la horquilla intramolecular que también se describe en la figura 36-6. La transcripción continúa hacia la región AT, y con la ayuda de la proteína de terminación ρ la RNA polimerasa se detiene, se disocia de la plantilla de DNA, y libera el transcrito naciente.

Tal como se considera con detalle en el capítulo 38, la transcripción de gen bacteriana está controlada por medio de la acción de proteínas represoras y activadoras. Estas proteínas típicamente se unen a secuencias de DNA singulares y específicas que se encuentran adyacentes a promotores. Estos represores y activadores afectan la capacidad de la RNA polimerasa para unirse al promotor en el DNA, o formar complejos abiertos, o ambos. El efecto neto es estimular la formación de PIC y el inicio de la transcripción, o inhibirlos (lo cual bloquea o aumenta en consecuencia la síntesis de RNA específico).

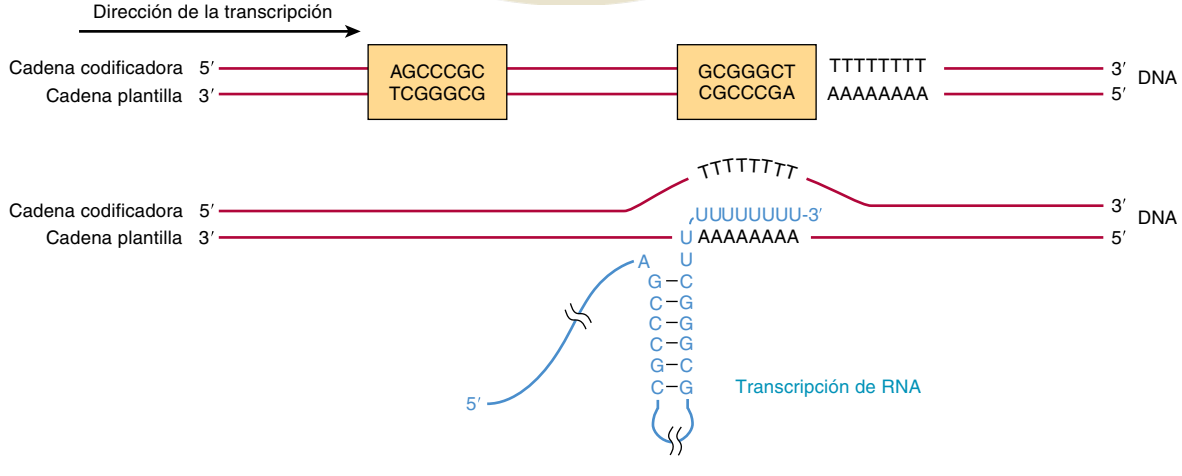


FIGURA 36-6 **La señal de terminación de la transcripción bacteriana predominante contiene una repetición invertida, dividida en secciones (las dos áreas encerradas en un cuadro) seguidas por un tramo de pares de bases AT (arriba).** La repetición invertida, cuando se transcribe hacia RNA, puede generar la estructura secundaria en la transcripción de RNA (**abajo**). La formación de esta horquilla de RNA hace que la RNA polimerasa haga una pausa y luego el factor de terminación ρ (rho) interactúa con la polimerasa pausada e induce la terminación de cadena.

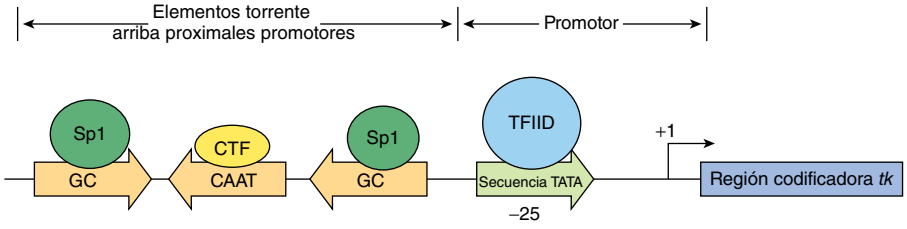


FIGURA 36-7 Elementos de transcripción y factores de unión en el gen que codifica para la timidina cinasa (*tk*) en el virus del herpes simple. La RNA polimerasa II dependiente de DNA (que no se muestra) se une a la región de la secuencia TATA (que es unida por el factor de transcripción TFIID) y TSS en +1 (figura 36-9) para formar un complejo de preinicio de múltiples componentes que tiene la capacidad de iniciar la transcripción en un nucleótido único (+1). La frecuencia de este evento es aumentada por la presencia de elementos de acción *cis* torrente arriba (las secuencias GC y CAAT) localizados cerca del promotor (promotor proximal) o lejos del mismo (elementos distales; figura 36-8). Los elementos *cis* DNA proximal y distal son unidos por factores de transcripción de acción *trans*, en este ejemplo Sp1 y CTF (también denominado C/EBP, NF1, NFY). Estos elementos *cis* pueden funcionar de manera independiente a la orientación (flechas).

Los promotores eucarióticos son más complejos

Está claro que las señales en el DNA que controlan la transcripción en células eucarióticas son de varios tipos. **Dos tipos de elementos de secuencia son proximales al promotor.** Uno de éstos **define dónde va a comenzar la transcripción** a lo largo del DNA, y el otro contribuye a los mecanismos que controlan la **frecuencia con la cual** va a ocurrir este evento. Por ejemplo, en el gen que codifica para la timidina cinasa del virus del herpes simple, que utiliza factores de transcripción de su huésped mamífero para su programa de expresión de gen temprano, hay un solo sitio de TSS y la transcripción de inicio adecuada a partir de este sitio depende de una secuencia de nucleótido localizada de unos 25 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de inicio (es decir, en –25) (**figura 36-7**). Esta región tiene la secuencia de **TATAAAAG** y tiene notoria similitud con la **secuencia TATA** vinculada desde el punto de vista funcional que está localizada alrededor de 10 bp torrente arriba desde el TSS de mRNA procariótico (figura 36-5). La mutación o desactivación de la secuencia TATA reduce de manera notoria la transcripción de éste y de muchos otros genes que contienen este elemento ***cis*-activo** de consenso (**figuras 36-7** y **36-8**). La secuencia TATA generalmente está localizada 25 a 30 bp torrente arriba desde el sitio de inicio de la transcripción en genes de mamífero que la contienen. La secuencia de consenso para una secuencia TATA es TATAAA, aunque se han caracterizado muchas variaciones. La secuencia TATA humana es unida por la **proteína de unión a TATA (TBP)** de 34 kDa, una subunidad en por lo menos dos complejos de múltiples subunidades, TFIID y SAGA/P-CAF. Las subunidades no TBP de TFIID son proteínas denominadas **factores relacionados con TBP (TAF)**. Este complejo de TBP y TAF se llama TFIID. Se cree que la unión del complejo TFIID de TBP-TAF a la secuencia de caja TATA representa un primer paso en la formación del complejo de transcripción sobre el promotor.

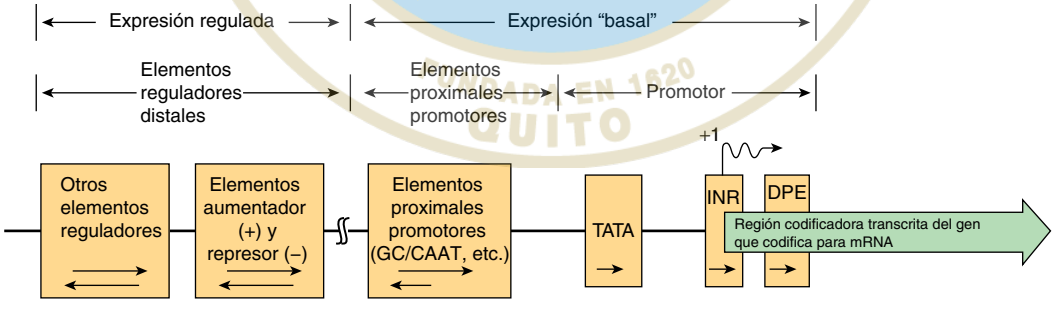


FIGURA 36-8 Diagrama que muestra las regiones de control de la transcripción en un gen eucariótico productor de mRNA hipotético transcrito por la RNA polimerasa II. Ese gen puede dividirse en sus regiones codificadora y reguladora, según se define por el sitio de inicio de la transcripción (**flecha**; +1). La región codificadora contiene la secuencia de DNA que se transcribe hacia mRNA, que finalmente se traduce hacia proteína. La región reguladora consta de dos clases de elementos. Una clase se encarga de asegurar expresión basal. El "promotor", a menudo conformado por la secuencia TATA y/o elementos Inr o DPE (cuadro 36-3), dirige a la RNA polimerasa II hacia el sitio correcto (fidelidad). Sin embargo, en ciertos genes o promotores que carecen de TATA, un elemento iniciador (Inr) o DPE puede dirigir a la polimerasa hacia este sitio. Otro componente, los elementos torrente arriba, especifica la frecuencia de inicio; esos elementos pueden ser proximales (50 a 200 bp) o distales (1 000 a 10^5 bp) al promotor, como se muestra. Entre los elementos proximales mejor estudiados está la secuencia CAAT, pero en diversos genes pueden usarse varios otros elementos (unidos por las proteínas transactivadoras Sp1, NF1, AP1, etc.; cuadro 36-3). Los elementos distales incrementan la expresión o la reprimen; varios de estos elementos median la respuesta a diversas señales, entre ellas hormonas, choque por calor, metales pesados y sustancias químicas. La expresión específica para tejido también comprende secuencias específicas de esta clase. Las flechas dentro de las cajas indican la dependencia de todos los elementos de la orientación. Por ejemplo, los elementos proximales (la secuencia TATA, INR, DPE) deben estar en la orientación 5′ a 3′, mientras que los elementos proximales torrente arriba a menudo funcionan mejor en la orientación 5′ a 3′, pero algunos de ellos se pueden revertir. Las localizaciones de algunos elementos no están fijas en cuanto al sitio de inicio de la transcripción. En realidad, algunos elementos de los cuales depende la expresión regulada pueden estar localizados ya sea entremezclados con los elementos torrente arriba, o bien torrente abajo desde el sitio de inicio, en éste o incluso torrente abajo en el mismo gen regulado.

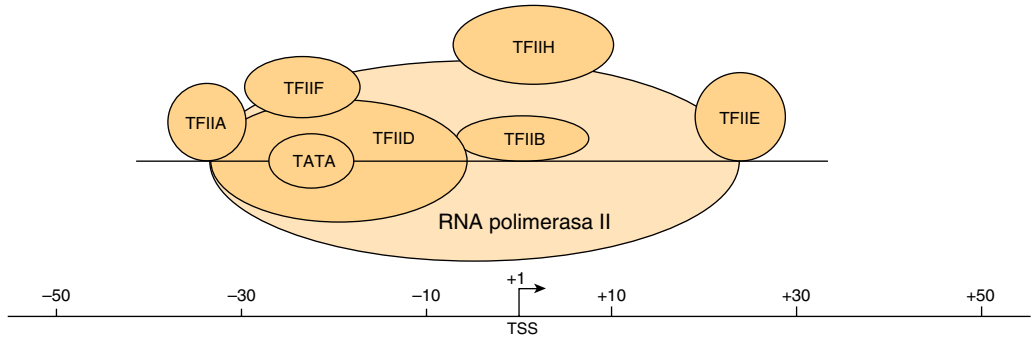


FIGURA 36-9 El complejo de transcripción basal eucarionte. La formación del complejo de transcripción basal empieza cuando se une TFIID, por medio de su subunidad de proteína de unión a TATA (TBP) y varias de sus 14 subunidades de factor asociado a TBP (TAF), a la secuencia TATA. A continuación, el TFIID dirige el montaje de varios otros componentes mediante interacciones proteína-DNA y proteína-proteína; TFIIA, B, E, F, H, y polimerasa II (pol II). Todo el complejo abarca DNA desde la posición ~-30 a +30 respecto al TSS en +1 (marcado con la flecha flexionada). Las estructuras derivadas de rayos X en el ámbito atómico de RNA polimerasa II sola, y de la subunidad TBP de TFIID unido al DNA promotor TATA en presencia de TFIIB o TFIIA se han resuelto a resolución de 3 Å. Las estructuras de complejos de TFIID y TFIIH se han determinado mediante microscopia electrónica a resolución de 30 Å, al igual que la estructura de pol II dirigida por TBP + PIC GTF. Así, las estructuras moleculares de la maquinaria de transcripción en acción están empezando a elucidarse. Gran parte de esta información estructural es congruente con los modelos presentados aquí.

Un considerable número de genes eucarióticos que codifican para mRNA carecen de una secuencia consenso TATA. En esas circunstancias, elementos *cis* adicionales, una **secuencia iniciadora (Inr)**, o el denominado elemento **promotor torrente abajo (DPE)**, o todos o una combinación de los anteriores, dirigen la maquinaria de transcripción de la RNA polimerasa II hacia el promotor, y al hacerlo proporcionan transcripción basal que empieza desde el sitio correcto. El elemento Inr abarca el sitio de inicio (desde –3 hasta + 5) y consta de la secuencia consenso general TCA_{+1} G/T T T/C (A_{+1} indica el primer nucleótido transcrito, es decir, TSS). Las proteínas que se unen a Inr para dirigir la unión de pol II incluyen el TFIID. Los promotores que tienen tanto una secuencia TATA como una Inr pueden ser más fuertes o transcribirse de modo más vigoroso que los que únicamente tienen uno de estos elementos. El DPE tiene la secuencia consenso A/GGA/T CGTG, y está localizado aproximadamente 25 bp torrente abajo del +1 TSS. Al igual que la Inr, las secuencias de DPE también son unidas por las subunidades TAF de TFIID. En un estudio de miles de genes eucarióticos codificadores para proteína, a grandes rasgos 30% contuvo una secuencia TATA e Inr, 25% contuvo Inr y DPE, 15% contuvo los tres elementos, mientras que ~ 30% sólo contuvo la Inr.

Las secuencias por lo general justo torrente arriba del sitio de inicio determinan la frecuencia con la cual sucede un evento de transcripción. Las mutaciones en estas regiones aminoran 10 a 20 veces la frecuencia de inicios transcripcionales. Las secuencias GC y CAAT, así llamadas debido a las secuencias de DNA comprendidas, son típicas de estos elementos de DNA. Cada una de estas secuencias se une a una proteína específica, Sp1 en el caso de la secuencia GC, y CTF por la secuencia CAAT; ambas se unen mediante sus **dominios de unión a DNA (DBD)** separados (figura 36-7). La frecuencia de inicio de transcripción es una consecuencia de estas interacciones entre proteína y DNA, y de interacciones complejas entre dominios particulares de los factores de transcripción (distintos de los dominios DBD, denominados los **dominios de activación; AD**) de estas proteínas y el resto de la maquinaria de transcripción (RNA polimerasa II, los **factores basales** o **generales, GTF, TFIIA, B, D, E, F,H** y otros factores correguladores como Mediador, remodeladores de cromatina y factores modificadores de cromatina). (Véase más adelante y las **figuras 36-9** y **36-10**.) La interacción entre proteína y DNA en la secuencia TATA que incluye RNA polimerasa II y otros componentes de la maquinaria de transcripción basal asegura la fidelidad del inicio.

Juntos, los elementos torrente arriba del promotor y *cis*-activo proximal al promotor confieren fidelidad y frecuencia de inicio en un gen, respectivamente. La secuencia TATA tiene un requerimiento en especial rígido tanto de posición como de orientación. Como en el caso de los promotores bacterianos, los cambios de una sola base en cualquiera de estos elementos *cis* pueden tener efectos notorios sobre la función al reducir la afinidad de unión de los factores *trans* alterados (TFIID/TBP o Sp1, CTF y factores similares). También es crucial el espaciado de la secuencia TATA, Inr y elementos promotores DPE.

Una tercera clase de elementos de secuencia puede aumentar o disminuir el índice de inicio de transcripción de genes eucarióticos. Estos elementos se llaman **aumentadores o represores (o silenciadores)**, dependiendo de cómo afectan la síntesis de RNA. Se han encontrado en diversas ubicaciones tanto torrente arriba como torrente abajo del sitio de inicio de la transcripción, e incluso dentro de las porciones codificadoras de proteína transcritas de algunos genes. Los aumentadores y silenciadores pueden ejercer sus efectos cuando están ubicados a miles o incluso decenas de miles de bases de unidades de transcripción localizadas en el mismo cromosoma. Sorprende que los aumentadores y silenciadores pueden funcionar de una manera independiente de la orientación. Se han descrito literalmente cientos de estos elementos. En algunos casos, los requisitos de secuencia para unión están rígidamente restringidos; en otros, se permite considerable variación de secuencia. Algunas secuencias únicamente se unen a una proteína única, pero casi todas se unen a varias proteínas diferentes. Juntos, estos transfactores que se unen a elementos promotores *cis* distales proximales regulan la transcripción en respuesta a una vasta gama de señales biológicas. Esos eventos reguladores de la transcripción contribuyen de modo importante al control de la expresión de gen.

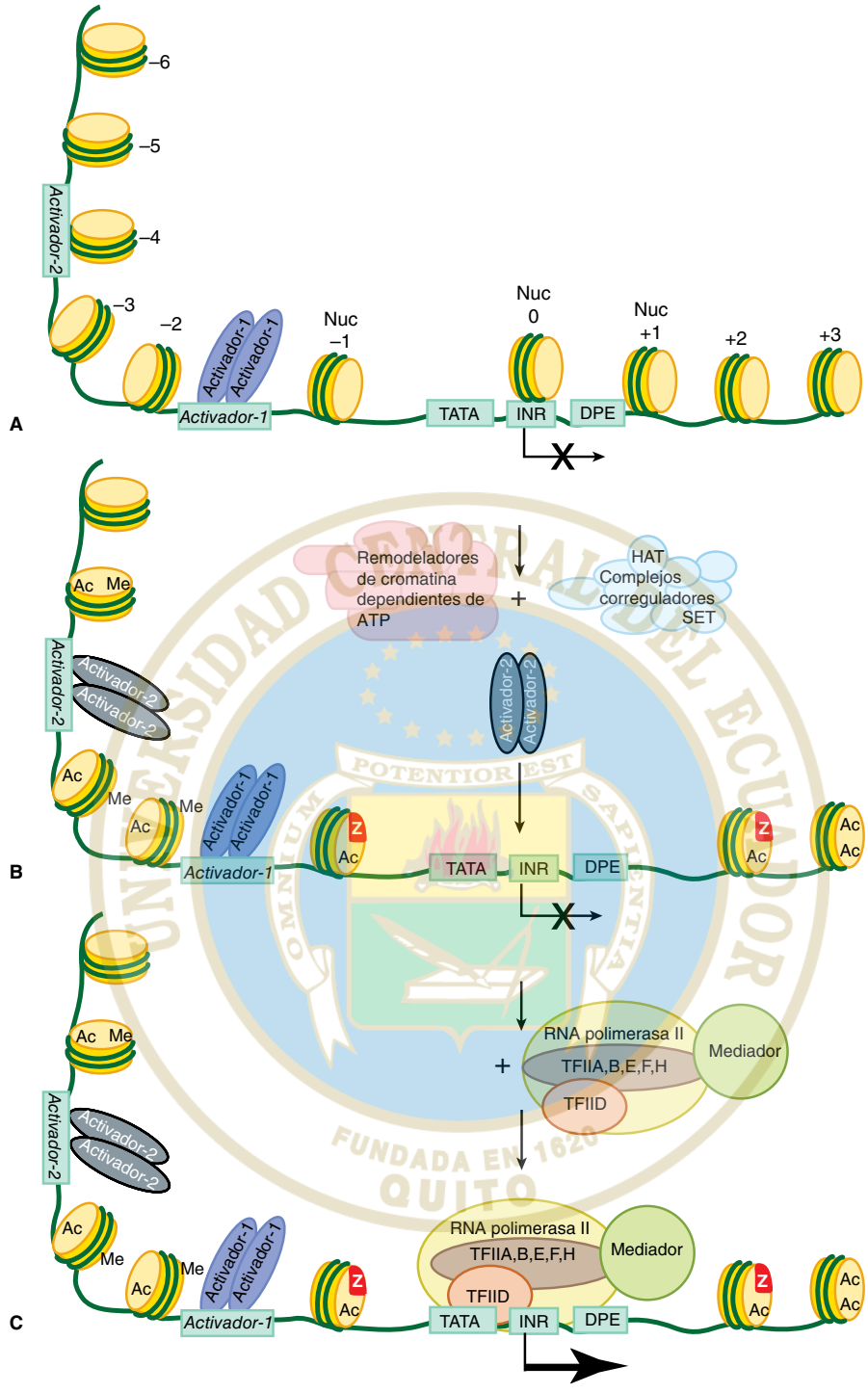


FIGURA 36-10 Las modificaciones covalentes, remodelado y evicción de nucleosoma por correguladores activos de cromatina modulan la formación y transcripción de PIC. Como se muestra en **A**, un gen codificador de mRNA inactivo (véase **X** sobre TSS; [la X de la figura se puede sustituir por TSS]) con un factor de transcripción dimérico único (activador-1; óvalos violeta) unido a su sitio de unión aumentador cognado *(activador-1)*. Este elemento aumentador particular estuvo libre de nucleosoma y, por ende, disponible para interacción con su proteína de unión a activadora particular. Sin embargo, este gen aún es inactivo (X sobre sitio de inicio de la transcripción [TSS]) debido al hecho de que una porción de su aumentador (en esta ilustración el aumentador es bipartita y está compuesto de *activador-1* y *activador-2*, sitios de unión a DNA) *y* la totalidad del promotor están cubiertos por nucleosomas. **B)** El activador unido a DNA aumentador-1 interactúa con cualquiera de varios remodeladores de cromatina dependientes de ATP separados, y complejos correguladores modificadores de cromatina. Estos correguladores juntos tienen la capacidad de mover o remodelar (p. ej., cambiar el contenido octamérico de la histona y/o remover nucleosomas) a través de la acción de varios remodeladores dependientes de ATP así como de modificar de manera covalente histonas nucleosomales usando acetilasas intrínsecas (HAT; que dan por resultado acetilación [Ac]) y metilasas (SET; dan lugar a metilación [Me], entre otras modificaciones postraduccionales [PTM], cuadro 35-1), portadas por subunidades de estos complejos. **C)** Así, los cambios resultantes de la posición de nucleosoma y la ocupación de nucleosoma (p. ej., nucleosoma -4 y nucleosoma 0), y composición (nucleosoma -1 y nucleosoma + 1) permiten la unión al segundo dímero activador-2 a las secuencias de DNA *activador-2*, lo cual lleva a la unión de la maquinaria de transcripción (TFIIA, B, D, E, F, H; polimerasa II y mediador) al promotor (TATA-INR-DPE), y la formación de un PIC activo, lo que lleva a una transcripción activada.

Señales específicas regulan la terminación de la transcripción

Las **señales para la terminación** de la transcripción por RNA polimerasa II eucariótica sólo se entienden poco. Parece ser que las señales de terminación existen torrente muy abajo de la secuencia de codificación de genes eucarióticos. Por ejemplo, la señal de terminación de transcripción para la globina β de ratón ocurre en varias posiciones 1 000 a 2 000 bases más allá del sitio en el cual finalmente se añadirá la cola poli(A) de mRNA. Se sabe menos en cuanto al proceso de terminación o si participan factores de terminación específicos similares al factor ρ bacteriano. Con todo, se conoce que la formación del 3′ terminal del mRNA, que se genera después de la transcripción, está acoplada de alguna manera a eventos o estructuras formados en el momento y el sitio de inicio. Además, la formación de mRNA, y en este caso la formación del extremo 3′ depende de una estructura especial presente en el extremo C terminal de la subunidad mayor de RNA polimerasa II, el **dominio C terminal** o **CTD** (véase más adelante), y este proceso parece comprender al menos dos pasos, como sigue. Luego de que una RNA polimerasa II ha atravesado la región de la unidad de transcripción que codifica para el extremo 3′ de la transcripción, las RNA endonucleasas dividen la transcripción primaria en una posición alrededor de 15 bases 3′ de la secuencia de consenso **AAUAAA** que en transcripciones eucarióticas sirve como una señal de división y poliadenilación. Finalmente, esta terminal 3′ recién formada se poliadenila en el nucleoplasma, como se describe más adelante.

EL COMPLEJO DE TRANSCRIPCIÓN EUCARIÓTICO

Un aparato complejo que consta de hasta 50 proteínas únicas proporciona transcripción precisa y regulable de genes eucarióticos. Las enzimas RNA polimerasa (pol I, pol II y pol III) transcriben información contenida en la cadena plantilla de DNA hacia RNA. Estas polimerasas deben reconocer un sitio específico en el promotor para iniciar la transcripción en el nucleótido apropiado. Aun así, en contraste con la situación en procariontes, las RNA polimerasas eucariontes *in vitro* solas son incapaces de distinguir entre secuencias promotoras y otras regiones no promotoras del DNA en la prueba *in vitro*. Todas las formas de RNA polimerasa eucarionte requieren otras proteínas, conocidas como factores de transcripción generales o GTF. La RNA polimerasa II requiere TFIIA, B, D (o TBP), E, F y H tanto para facilitar la unión de la enzima específica para el promotor, como para la formación del PIC. Las RNA polimerasas I y III requieren sus propios GTF específicos para polimerasa. Más aún, la RNA polimerasa II y los GTF no muestran respuesta a proteínas activadoras, y sólo pueden catalizar la transcripción basal o (no)-desregulada *in vitro*. Otro grupo de proteínas (los **coactivadores** o **correguladores**) funcionan conjuntamente con proteínas transactivadoras de unión a DNA, o se comunican con Pol II/GTF para regular la tasa de transcripción (véase más adelante).

Formación del complejo de transcripción pol II

En bacterias, un complejo de factor σ-holoenzima polimerasa, Eσ, se une de manera selectiva al promotor en el DNA para formar el PIC. La situación es mucho más compleja en genes eucarióticos. Los genes codificadores de mRNA, que son transcritos por pol II, se describen como un ejemplo. En el caso de genes transcritos por pol II, la función de los factores σ es asumida por diversas proteínas. La formación del PIC necesita, además de pol II, varios de los denominados factores de transcripción general (GTF) llamados TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF y TFIIH. Estos GTF sirven para promover la transcripción de RNA polimerasa II esencialmente en todos los genes. Algunos de estos GTF están compuestos de múltiples subunidades. El **TFIID**, que se une al elemento promotor secuencia TATA mediante su subunidad TBP, es el único de estos factores que independientemente es capaz de unión específica, de alta afinidad al promotor en el DNA. El TFIID consta de 15 subunidades, TBP y 14 factores asociados con TBP (TAF).

El TBP se une a la secuencia TATA en el surco menor del DNA (casi todos los factores de transcripción se unen en el surco mayor) y origina una flexión o acodamiento de aproximadamente 100 grados de la hélice de DNA. Se cree que esta flexión facilita la interacción de TAF con otros componentes del complejo de inicio de transcripción, el promotor eucariótico de múltiples componentes, y posiblemente con factores unidos a elementos torrente arriba. Aunque al principio definido como un componente sólo requerido para transcripción de promotores de gen pol II, el TBP, en virtud de su asociación con distintos grupos de TAF específicos para polimerasa, separados, también es un componente importante de los complejos de inicio de transcripción pol I y pol III, incluso si no contienen secuencias TATA.

La unión de TFIID marca un promotor específico para la transcripción. De varios pasos *in vitro* subsiguientes, el primero es la unión de TFIIA, y después de TFIIB, al complejo de TFIID-promotor. Esto da por resultado un complejo ternario estable que luego se ubica con mayor exactitud y más estrechamente unido en el sitio de inicio de la transcripción; este complejo a continuación atrae y une el complejo de pol II-TFIIF al promotor. La adición de TFIIE y la de TFIIH son los pasos finales en el montaje del PIC. El TFIIE parece unirse al complejo con pol II–TFIIF, y a continuación se recluta TFIIH. Cada uno de estos eventos de unión extiende el tamaño del complejo, de modo que finalmente quedan cubiertas alrededor de 60 bp (desde −30 hasta +30 respecto a +1 TSS) (figura 36-9). El PIC ahora está completo y tiene capacidad de transcripción basal iniciada a partir del nucleótido correcto. En genes que carecen de una secuencia TATA, se requieren los mismos factores. En esos casos, la Inr o el DPE sirve para (figura 36-8) colocar al complejo en la posición adecuada para inicio preciso de la transcripción.

La accesibilidad del promotor y, por ende, la formación del PIC a menudo están moduladas por nucleosomas

En ciertos genes eucarióticos la maquinaria de transcripción (pol II, etc.) no puede tener acceso a las secuencias promotoras (es decir, TATA-INR-DPE) porque estos elementos promotores esenciales están envueltos en nucleosomas (figuras 35-2, 35-3 y 36-10). Los nucleosomas represores sólo se eliminan después de que los factores de transcripción se unen al DNA potenciador torrente arriba del promotor, y reclutan factores remodeladores

de cromatina y correguladores modificadores, como los factores Swi/Snf, SRC-1, p300/CBP (capítulo 42) P/CAF u otros factores (figura 36-10). Una vez que el promotor está "abierto" luego de la disociación del nucleosoma, GTF y RNA polimerasa II pueden unirse e iniciar la transcripción del gen de mRNA. Note que la unión de transactivadores y correguladores puede ser sensible a, o controlar de manera directa, o ambas, el estado de modificación covalente de las histonas dentro de los nucleosomas en y alrededor del promotor y potenciador y, así, aumentar o disminuir la capacidad de todos los otros componentes requeridos para la formación de PIC para interactuar con un gen particular. Este denominado **código epigenético de modificaciones de histonas y proteína** puede contribuir de modo importante al control de la transcripción del gen. En realidad, las mutaciones en proteínas que catalizan (escritoras de código), eliminan (borradoras de código) o que se unen de manera diferencial (lectoras de código) a histonas modificadas pueden llevar a enfermedad en humanos.

La fosforilación activa a la pol II

La pol II eucariótica consta de 12 subunidades. Como ya se mencionó, las dos subunidades de mayor tamaño (MW 220 y 150 kDa) son homólogas a las subunidades β y β′ bacterianas. Además del número incrementado de subunidades, la pol II eucariótica difiere de su homóloga procariótica por cuanto tiene una serie de siete repeticiones con secuencia de consenso Tir-Ser-Pro-Tre-Ser-Pro-Ser en el carboxilo terminal de la subunidad pol II de mayor tamaño. Este **dominio de repetición carboxilo terminal (CTD)** tiene 26 unidades repetidas en la levadura de cerveza y 52 unidades en células de mamífero. El CTD es un sustrato para varias enzimas (cinasas, fosfatasas, prolil isomerasas, glucosilasas); la fosforilación del CTD fue la primera modificación postraduccional (PTM) de CTD descubierta. La subunidad cinasa de TFIIH entre otras proteínas puede modificar el CTD. El CTD modificado de manera covalente es el sitio de unión para una amplia gama de proteínas, y se ha mostrado que interactúa con muchas enzimas modificadoras de mRNA y procesadoras del mismo, y proteínas de transporte nuclear. De este modo, la asociación de estos factores con el CTD de la RNA polimerasa II (y otros componentes de la maquinaria basal) sirve para acoplar el inicio de la transcripción con el empalme de mRNA, la formación del extremo 3′, y el transporte hacia el citoplasma (véase más adelante). La pol II se activa cuando se fosforila en los residuos Ser y Tre, y despliega menor actividad cuando el CTD se desfosforila. La fosforilación/desfosforilación de CTD es crucial para la eliminación del promotor, el alargamiento, la terminación, e incluso el procesamiento apropiado del mRNA. La pol II que carecen de la cola CTD es incapaz de activar la transcripción, y las células que expresan pol II que carece de CTD son inviables. Esos resultados subrayan la importancia de este dominio para la biogénesis de mRNA.

La pol II puede asociarse con otras proteínas llamadas proteínas **Mediadoras o Med** para formar un complejo que a veces se denomina holoenzima pol II; este complejo puede formarse en el promotor o antes de la formación del PIC (véase más adelante). Las proteínas Med son esenciales para la regulación apropiada de la transcripción de pol II al desempeñar muchísimas funciones, que tanto activan como reprimen la transcripción. De esta manera, el **Mediador**, al igual que TFIID, es un corregulador transcripcional (**figura 36-11**).

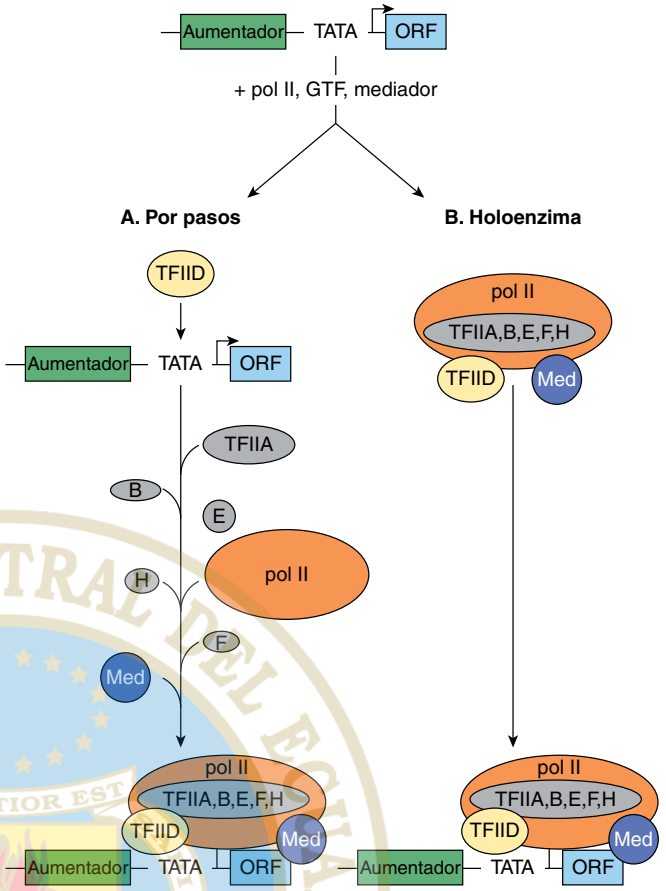


FIGURA 36-11 Modelos para la formación de un complejo de preinicio de polimerasa II de RNA. En la parte superior se muestra una unidad de transcripción codificadora de mRNA característica: promotor aumentador (TATA)-TSS (flecha doblada) y ORF (marco de lectura abierto) dentro de la región transcrita. Se ha mostrado que los PIC se forman al menos por medio de dos mecanismos: **A**) la unión por pasos de GTF, pol II y Mediador, o **B**) mediante la unión de un complejo de múltiples proteínas único compuesto de pol II, Med y los seis GTF. Las proteínas transactivadoras de unión a DNA se unen de manera específica a aumentadores y en parte facilitan la formación de PIC (o la función de PIC) al unirse de modo directo a las subunidades TFIID-TAF o subunidades Med de Mediador (que no se muestra, figura 36-10); el o los mecanismos moleculares por medio de los cuales esas interacciones entre una proteína y otra estimulan la transcripción todavía están sujetos a investigación intensa.

La función de activadores y correguladores de la transcripción

Originalmente se consideró que el TFIID era una proteína única, la TBP. Aun así, algunas evidencias llevaron al importante descubrimiento de que el TFIID de hecho es un complejo que consta de TBP y las 14 TAF. La primera evidencia de que el TFIID era más complejo que las moléculas de la TBP provino de la observación de que la TBP se une a un segmento de DNA de 10 bp, inmediatamente sobre la secuencia TATA del gen, mientras que el holo-TFIID natural cubre una región de 35 bp o de mayor tamaño (figura 36-9). En segundo lugar, la TBP tiene una masa molecular de 20 a 40 kDa (dependiendo de la especie), mientras que el

CUADRO 36-3 Algunos de los elementos de control de la transcripción de RNA polimerasa II de mamífero, sus secuencias de consenso y los factores que se unen a ellos

Elemento	Secuencia de consenso	Factor
Secuencia TATA	TATAAA	TBP/TFIID
Inr	T/CT/CANT/AT/CT/C	TFIID
DPE	A/GGA/TCGTG	TFIID
Secuencia CAAT	CCAATC	C/EBP*, NF-Y*
Secuencia GC	GGGCGG	Sp1*
	CAACTGAC	Myo D
	T/CGGA/CN$_5$GCCAA	NF1*
Octámero de Ig	ATGCAAAT	Oct1, 2, 4, 6*
AP1	TGAG/CTC/AA	Jun, Fos, ATF*
Respuesta sérica	GATGCCCATA	SRF
Choque por calor	(NGAAN)$_3$	HSF

Nota: todos los elementos listados están escritos de 5′ a 3′, y sólo se muestra la cadena superior del elemento dúplex. Una lista completa incluiría cientos de ejemplos. Los asteriscos significan que hay varios miembros de esta familia. Los nucleótidos separados por una diagonal indican que cualquiera de dos nucleótidos puede estar en esa posición (esto es, T/C en la primera posición Inr implica que T o C puede ocupar esa posición; N, implica que cualquiera de las cuatro bases de DNA A, G, C o T puede ocupar esa posición particular en el elemento cis indicado).

CUADRO 36-4 Tres clases de factores de transcripción comprendidas en la transcripción de gen que codifica para mRNA

Mecanismos generales	Componentes específicos
Componentes basales	RNA polimerasa II, TBP, TFIIA, B, D, E, F y H
Correguladores	TAF (TBP + TAF) = TFIID; ciertos genes
	Mediador, Med
	Modificadores de cromatina
	Remodeladores de cromatina
Activadores	SP1, ATF, CTF, AP1, etc.

complejo nativo de TFIID tiene una masa de aproximadamente 1 000 kDa. Finalmente, y quizá lo que tiene mayor importancia, la TBP apoya la transcripción basal, no así la transcripción aumentada proporcionada por ciertos activadores, por ejemplo. Sp1 unido a la secuencia GC. Por otra parte, el TFIID apoya la transcripción tanto basal como aumentada por Sp1, Oct1, AP1, CTF, ATF, etcétera (**cuadro 36-3**). Los TAF son esenciales para esta transcripción aumentada por activador. Probablemente hay varias formas de TFIID que difieren un poco en su complemento de TAF. Así, diferentes combinaciones de TAF con TBP (o uno de varios factores parecidos a TBP recién descubiertos (TLF)) se unen a diferentes promotores, e informes recientes sugieren que esto puede explicar la activación selectiva de genes para diversos promotores en células tejidos, y las diferentes potencias de ciertos promotores. Los TAF, puesto que se necesitan para la acción de los activadores, suelen llamarse coactivadores o correguladores. De este modo, hay tres clases de factores de transcripción involucrados en la regulación de los genes pol II: pol II y GTF, correguladores, y activadores-represores de unión a DNA (**cuadro 36-4**). La manera en que estas clases de proteínas interactúan para regir tanto el sitio como la frecuencia de transcripción es una interrogante de importancia fundamental e investigación activa. Se cree que los correguladores actúan como un puente entre los transactivadores de unión a DNA y pol II/GTF, y que modifican la cromatina.

Dos modelos pueden explicar el montaje del complejo de preinicio

La formación del PIC antes descrito se basa en la adición secuencial de componentes purificados según se observa por medio de experimentos *in vitro*. Una característica esencial de este modelo es que el montaje de PIC tiene lugar sobre una plantilla de DNA donde todas las proteínas de transcripción tienen fácil acceso al DNA. Por consiguiente, se cree que los activadores de la transcripción, que tienen dominios de unión y de activación de DNA autónomos (capítulo 38), funcionan al estimular la formación de PIC. Aquí el TAF o los complejos mediadores se consideran factores que forman puentes que comunican entre los activadores unidos torrente arriba, y los GTF y pol II. Esta opinión asume que hay **montaje por pasos** del PIC, promovido por diversas interacciones entre activadores, coactivadores y componentes del PIC (figura 36-11, panel A). Este modelo recibió apoyo por observaciones de que muchas de estas proteínas en realidad pueden unirse entre sí *in vitro*.

Evidencia reciente sugiere que hay otro posible mecanismo de formación de PIC y, de este modo, de la regulación de la transcripción. En primer lugar, se encuentran complejos premontados grandes de GTF y pol II en extractos celulares, y estos complejos pueden relacionarse con el promotor en un paso único; en segundo lugar, el índice de transcripción que se logra cuando se añaden activadores a concentraciones limitantes de holoenzima pol II puede igualarse al incrementar la concentración de esta última en ausencia de activadores. Así, por lo menos *in vitro*, pueden establecerse condiciones en las cuales los activadores no son por sí mismos absolutamente esenciales para la formación de PIC; tales observaciones condujeron a la **hipótesis del "reclutamiento"**, que ahora se ha probado de manera experimental. Expresado en términos simples, la función de activadores y de algunos coactivadores tal vez solamente sea reclutar un complejo de holoenzima-GTF preformado hacia el promotor. El requerimiento de un dominio de activación se evita cuando un componente del TFIID o la holoenzima pol II se fija de manera artificial, usando técnicas de DNA recombinante, al dominio de unión a DNA (DBD) de un activador. Esta fijación, mediante el componente DBD de la molécula activadora, da pie a una estructura competente en el aspecto transcripcional, y no hay requerimiento adicional del dominio de activación del activador. En esta perspectiva, la función de los dominios de activación es dirigir complejos de holoenzima-GTF preformados hacia el promotor; no ayudan en el montaje del PIC (figura 36-11, panel B). En este modelo, la eficiencia del proceso de reclutamiento determina de modo directo el índice de transcripción en un promotor dado.

LAS MOLÉCULAS DE RNA POR LO REGULAR SE PROCESAN ANTES DE LLEGAR A SER FUNCIONALES

En organismos procarióticos, los transcritos primarios de genes que codifican para mRNA empiezan a servir como plantillas de traducción incluso antes de que se haya completado su transcripción. Esto puede suceder porque el sitio de transcripción no está compartamentalizado hacia un núcleo como lo está en organismos eucarióticos. De esta manera, la transcripción y traducción están acopladas en células procarióticas; por tanto, los mRNA procarióticos están sujetos a poco procesamiento antes de llevar a cabo su función prevista en la síntesis de proteína. De hecho, la regulación apropiada de algunos genes (p. ej., el operón *Trp*) depende de este acoplamiento de la transcripción y la traducción. Las moléculas de rRNA y tRNA procarióticas se transcriben en unidades de tamaño considerablemente mayor que la molécula final. En realidad, muchas de las unidades de transcripción de tRNA codifican para más de una molécula de tRNA. De este modo, en procariotas el procesamiento de estas moléculas precursoras de rRNA y tRNA se requiere para la generación de las moléculas funcionales maduras.

Casi todos los transcritos primarios de RNA eucariótico pasan por procesamiento extenso entre el momento en que se sintetizan y el momento en el cual desempeñan su función final, sea como mRNA, miRNA, o como un componente de la maquinaria de traducción, como rRNA, o tRNA. El procesamiento ocurre principalmente dentro del núcleo. Los procesos de **transcripción, procesamiento de RNA, e incluso transporte de RNA desde el núcleo están muy coordinados**. De hecho, se cree que un coactivador transcripcional denominado SAGA en levaduras y P/CAF en células de ser humano, enlaza la activación de la transcripción al procesamiento del RNA al reclutar un segundo complejo llamado TREX para alargamiento, empalme y exportación nuclear de la transcripción. El TREX (exportación de transcripción) representa un probable enlace molecular entre complejos de alargamiento de transcripción, la maquinaria de empalme del RNA, y exportación nuclear (**figura 36-12**). Este acoplamiento probablemente aumenta de manera notoria tanto la fidelidad como el índice de procesamiento y movimiento del mRNA hacia el citoplasma para la traducción.

Las porciones codificadoras (exones) de casi todos los genes eucariontes están interrumpidas por intrones

Las secuencias de RNA que aparecen en RNA maduros se denominan **exones.** En genes que codifican para mRNA, los exones a menudo están interrumpidos por secuencias largas de DNA que no aparecen en mRNA maduro ni contribuyen a la información genética finalmente traducida hacia la secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína (capítulo 35). De hecho, estas secuencias a menudo interrumpen la región codificadora de genes estructurales. Estas **secuencias interpuestas**, o **intrones**, existen dentro de casi todos los genes que codifican para mRNA de eucariontes superiores, pero no en todos. En genes que codifican para mRNA de ser humano, los **exones promedian ~ 150 nt**, mientras que **los intrones son mucho más heterogéneos; varían**

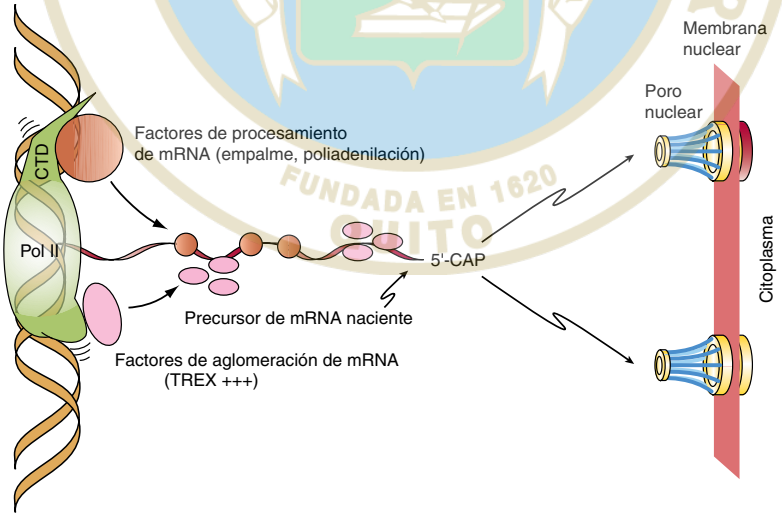


FIGURA 36-12 La transcripción de gen que codifica para mRNA mediada por RNA polimerasa II está acoplada desde el punto de vista cotranscripcional a procesamiento y transporte de RNA. Se muestra la RNA pol II que está transcribiendo de manera activa un gen que codifica para mRNA (alargamiento de arriba abajo en la figura). Los factores de procesamiento de RNA (es decir, factores de empalme que contienen motivos SR/RNP, así como factores de poliadenilación y terminación) interactúan con el dominio C terminal (CTD) de pol II, mientras que los factores de aglomeración de mRNA como el complejo THO/TREX se reclutan hacia la transcripción primaria de mRNA naciente sea mediante interacciones directas con pol II como se muestra, o por medio de interacciones con factores de SR/de empalme residentes en mRNA naciente. Note que el CTD no está dibujado a escala. Este dominio evolutivamente conservado de la subunidad Rpb1 de pol II en realidad es 5 a 10 veces la longitud de la polimerasa debido a sus muchas prolinas y naturaleza desestructurada consiguiente y, así, es un importante sitio de acoplamiento para proteínas procesadoras y de transporte de RNA. En ambos casos, se cree que las cadenas de mRNA nacientes se procesan con mayor rapidez y exactitud debido al reclutamiento rápido de estos muchos factores hacia la cadena de mRNA en crecimiento (precursora). Después del procesamiento apropiado del mRNA, el mRNA maduro pasa por los poros nucleares (figuras 36-17 y 46-4) de la membrana nuclear, donde, en el momento de transporte a través de los poros, los ribosomas pueden unirse a mRNA y traducirlos hacia proteína. (Adaptado de Jensen *et al. Molecular Cell* 2005; 11:1129-1138).

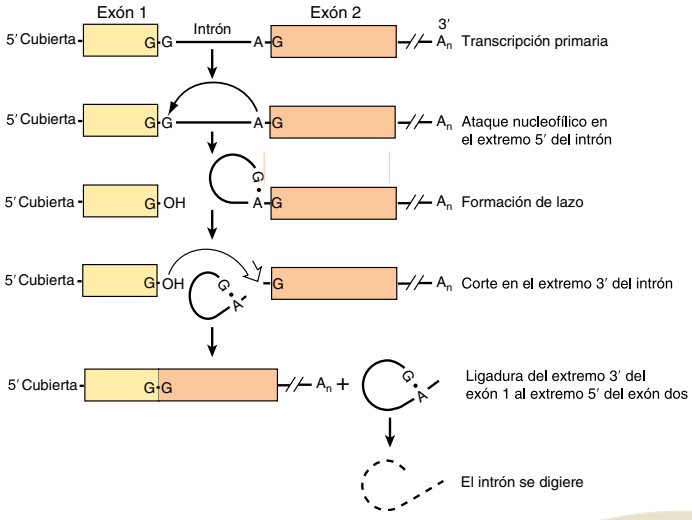


FIGURA 36-13 El procesamiento de la transcripción primaria hacia mRNA. En esta transcripción hipotética, el extremo 5′ (**izquierda**) del intrón se corta (→), y se forma un lazo entre la G en el extremo 5′ del intrón y una A cerca del extremo 3′, en la secuencia del consenso UACUA**A**C. Esta secuencia se llama el sitio ramificado, y es la **A** más 3′ la que forma el enlace 5′-2′ con la G. El extremo 3′ (**derecha**) del intrón a continuación se corta (⇓). Esto libera el lazo, que es digerido, y el exón 1 es unido al exón 2 en residuos G.

desde 10 a 100 nt hasta 30 000 nucleótidos de largo. Las secuencias de RNA intrón se eliminan de la transcripción, y los exones de la transcripción se empalman de modo apropiado entre sí en el núcleo antes de que la molécula de mRNA resultante aparezca en el citoplasma para la traducción (**figuras 36-13** y **36-14**).

Los intrones se eliminan y los exones se empalman entre sí

Se han descrito diferentes mecanismos de reacción de empalme para eliminación de intrón. A continuación se describe el que se usa con mayor frecuencia en células eucarióticas. Aun cuando las secuencias de nucleótidos en los intrones de las diversas transcripciones eucarióticas (e incluso las que están dentro de una transcripción única) son bastante heterogéneas, hay secuencias razonablemente conservadas en cada una de las dos uniones de exón-intrón (empalme) y en el sitio de ramificación, que está localizado 20 a 40 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de empalme 3′ (véase secuencias de consenso en la figura 36-14). Un complejo de múltiples componentes especial, el **empalmosoma**, participa en la conversión del transcrito primario hacia mRNA. Los empalmosomas constan del transcrito primario, cinco snRNA (U1, U2, U4, U5 y U6) y más de 60 proteínas, muchas de las cuales contienen proteínas **motivo RRM** (**reconocimiento de RNA**) y **SR** (**serina-arginina**). En conjunto, las cinco proteínas que contienen SnRNA y RRM/SR forman una **pequeña ribonucleoproteína nuclear** denominada **complejo snRNA.** Es probable que este empalmosoma penta-snRNP se forme antes de la interacción con precursores de mRNA. Se cree que los snRNP colocan los segmentos de exón e intrón de RNA para las reacciones de empalme necesarias. La reacción de empalme empieza con un corte en la unión del exón 5′ (donador o izquierdo) y el intrón (figura 36-13). Esto se logra por medio de ataque nucleofílico por un residuo adenililo en la secuencia de punto de ramificación localizada justo torrente arriba desde el extremo 3′ de este intrón. La terminal 5′ libre forma entonces una estructura en asa o lazo que es unida por un enlace fosfodiéster 5′−2′ poco común a la A reactiva en la secuencia de sitio de ramificación PyNPyPyPuAPy (figura 36-14). Este residuo adenililo típicamente está localizado 20 a 30 nucleótidos torrente arriba desde el extremo 3′ desde el intrón que se está eliminando. El sitio de ramificación identifica el sitio de empalme 3′. Se hace un segundo corte en la unión del intrón con el exón 3′ (donador a la derecha). En esta segunda reacción de transesterificación, el hidroxilo 3′ del exón torrente arriba ataca al fosfato 5′ en el límite entre exón e intrón torrente abajo, y la estructura en lazo que contiene el intrón se libera y se hidroliza. Los exones 5′ y 3′ se ligan para formar una secuencia continua.

Los snRNA y las proteínas asociadas se necesitan para la formación de las diversas estructuras e intermediarios. U1 dentro del complejo snRNP se une primero mediante formación de par de bases al límite entre exón e intrón 5′. A continuación, U2 dentro del complejo snRNP se une por medio de formación de par de bases al sitio de ramificación, y esto expone el residuo A nucleofílico. U4/U5/U6 dentro del complejo snRNP media un desenrollamiento mediado por proteína, dependiente de ATP, que suscita alteración del complejo U4−U6 formado con par de base, con la liberación de U4. A continuación U6 puede interactuar primero con U2, y después con U1. Estas interacciones sirven para aproximar el sitio de empalme 5′, el punto de ramificación con su A reactiva, y el sitio de empalme 3′. U5 incrementa esta alineación; este proceso también produce la formación de la estructura en asa o lazo. Los dos extremos se dividen, probablemente por medio del U2−U6 dentro del complejo snRNP. U6 sin duda es esencial, dado que las levaduras con deficiencia de este snRNA no son viables. Tiene importancia notar que el RNA sirve como agente catalítico. Esta secuencia de eventos a continuación se repite en genes que contienen múltiples intrones. En esos casos, se sigue un modelo definido para cada gen, aunque los intrones no necesariamente se eliminan en secuencia, 1, después 2, después 3, etc.

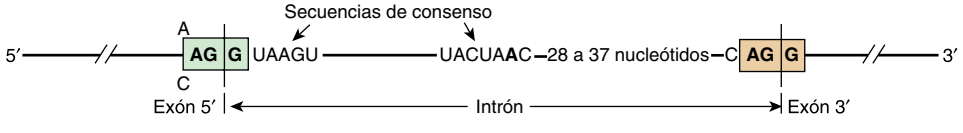


FIGURA 36-14 Secuencias de consenso en uniones de empalme. Se muestran las secuencias 5′ (donadora; **izquierda**) y 3′ (aceptora; **derecha**). También se muestran las secuencias de consenso de levadura (UACUA**A**C) para el sitio ramificado. En células de mamífero, esta secuencia de consenso es PyNPyPyPuAPy, donde Py es una pirimidina, Pu es una purina, y N es cualquier nucleótido. El sitio de ramificación está ubicado 20 a 40 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de empalme 3′.

El empalme alternativo proporciona mRNA diferentes

El procesamiento de moléculas de mRNA es un sitio para la regulación de la expresión de gen. Patrones alternativos de empalme de mRNA se producen por mecanismos de control adaptativos y vinculados con el desarrollo específicos para cada tejido. Despierta interés que estudios recientes sugieren que el empalme alternativo está controlado, al menos en parte, por marcas epigenéticas en la cromatina (cuadro 35-1). Esta forma de acoplamiento de la transcripción y el procesamiento del mRNA puede ser cinética y/o estar mediada por interacciones entre PTM de histonas específicas y factores de empalme alternativos que pueden cargarse hacia transcritos de gen que codifica para mRNA nacientes durante el proceso de transcripción (figura 36-12).

Como se mencionó, la secuencia de eventos de empalme de exón-intrón por lo general sigue un orden jerárquico para un gen dado. El hecho de que durante el empalme se forman estructuras de RNA muy complejas (y de que varios snRNA y proteínas están involucrados) proporciona muchas posibilidades para un cambio de este orden y para la generación de diferentes mRNA. De manera similar, el uso de sitios de poliadenilación de división de terminación alternativos también ocasiona variabilidad del mRNA. En la **figura 36-15** se muestran algunos ejemplos esquemáticos de estos procesos, todos los cuales suceden en la Naturaleza.

El empalme fallido puede traducirse en enfermedad. Al menos una forma de β-talasemia, una enfermedad en la cual el gen que codifica para la globina β de la hemoglobina está gravemente expresado de modo insuficiente, parece ser el resultado de un cambio de nucleótido en una unión de exón e intrón, lo que impide la eliminación del intrón y, en consecuencia, lleva a síntesis reducida de la proteína de la cadena β, o a falta de la misma. Ésta es una consecuencia del hecho de que el marco de lectura de traducción normal del mRNA, se altera por un defecto del proceso fundamental de empalme del RNA, lo que subraya la exactitud que debe mantener el proceso de empalme RNA-RNA.

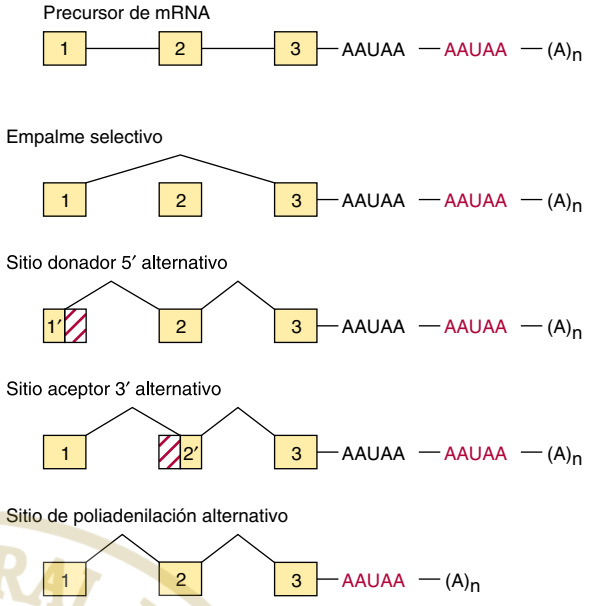


FIGURA 36-15 Mecanismos de procesamiento alternativo de precursores de mRNA. Esta forma de procesamiento de RNA involucra la inclusión o exclusión selectiva de exones, la utilización de sitios 5′ donador o 3′ aceptor alternativos, y el uso de sitios de poliadenilación diferentes y drásticamente incrementa el potencial de diferenciación de codificación de la proteína del genoma.

La utilización de promotor alternativo proporciona una forma de regulación

El empalme alternativo puede proporcionar regulación específica para tejido de la expresión de gen, como se mencionó, por medio de elementos de control en el promotor o mediante el uso de promotores alternativos. El gen que codifica para la glucocinasa (*GK*) consta de 10 exones interrumpidos por nueve intrones. La secuencia de exones 2 a 10 es idéntica en células del hígado, y β pancreáticas, los tejidos primarios en los cuales se expresa la proteína GK. La expresión del gen *GK* está regulada de manera muy diferente (por dos promotores distintos) en estos dos tejidos. El promotor hepático y el exón 1L están localizados cerca de los exones 2 a 10; el exón 1L está ligado de modo directo al exón 2. En contraste, el promotor de células β pancreáticas está localizado unos 30 kbp torrente arriba. En este caso, el límite 3′ del exón 1B está ligado al límite 5′ del exón 2. El promotor hepático y el exón 1L se excluyen y eliminan durante la reacción de empalme (**figura 36-16**). La existencia de múltiples promotores distintos permite que haya modelos de expresión específicos para célula y para tejido de un gen particular (mRNA). En el caso de la *GK*, la insulina y el cAMP (capítulo 42) controlan la transcripción de *GK* en el hígado, mientras que la glucosa controla la expresión de *GK* en células β.

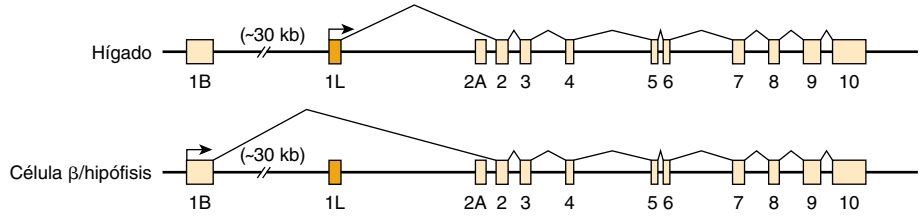


FIGURA 36-16 Uso de promotor alternativo en genes que codifican para glucocinasa (*GK*) en células del hígado, y β pancreáticas. La regulación diferencial del gen que codifica para glucocinasa se logra mediante el uso de promotores específicos para tejido. El promotor de gen *GK* de células β y el exón 1B están localizados a aproximadamente 30 kbp torrente arriba desde el promotor y el exón 1L hepáticos. Cada promotor tiene una estructura singular, y está regulado de modo diferente. Los exones 2 a 10 son idénticos en los dos genes, y las proteínas GK codificadas por los mRNA de células del hígado y β tienen propiedades cinéticas iguales.

Tanto los RNA ribosómicos como casi todos los RNA de transferencia se procesan a partir de precursores de mayor tamaño

En células de mamífero, las tres moléculas de rRNA (28S, 18S, 5.8S) se transcriben como parte de una molécula precursora 45S grande única. **El precursor luego se procesa en el nucléolo** para proporcionar estos tres componentes del RNA para las subunidades de ribosoma que se encuentran en el citoplasma. Los genes que codifican para rRNA están localizados en los nucléolos de células de mamífero. En cada célula hay cientos de copias de estos genes. Este número grande de genes se necesita para sintetizar suficientes copias de cada tipo de rRNA, para formar los 10^7 ribosomas requeridos para cada replicación celular. Mientras que una molécula de mRNA única puede copiarse hacia 10^5 moléculas de proteína, lo que proporciona una amplificación grande, los rRNA son productos terminales. Esta falta de amplificación requiere tanto un número grande de genes como un índice de transcripción alto, típicamente sincronizado con el índice de crecimiento celular. De manera similar, los RNA de transferencia (tRNA) a menudo se sintetizan como precursores, con secuencias extra tanto 5′ como 3′ de las secuencias que comprende el tRNA maduro. Una pequeña fracción de tRNA contiene intrones.

LOS RNA SE PUEDEN MODIFICAR DE MODO EXTENSO

En esencia todos los RNA se modifican de manera covalente después de la transcripción; está claro que por lo menos algunas de estas modificaciones son reguladoras.

El RNA mensajero (mRNA) se modifica en los extremos 5′ y 3′

Como se mencionó, las moléculas de mRNA de mamífero contienen una **estructura de 7-metilguanosina** que hace las veces de cubierta en su 5′ terminal (figura 34-10), y casi todos tienen una **cola poli(A)** en la 3′ terminal. La estructura de cubierta se añade al extremo 5′ del precursor de mRNA recién transcrito en el núcleo antes de transporte de la molécula de mRNA hacia el citoplasma. La cubierta 5′ de la transcripción del RNA se requiere tanto para el inicio eficiente de la traducción como para la protección del extremo 5′ del mRNA contra ataque por exonucleasas 5′ → 3′. Las metilaciones secundarias de moléculas de mRNA, las que están en el 2′-hidroxi y el N^7 de residuos adenililo, ocurren luego de que la molécula de mRNA ha aparecido en el citoplasma.

Las colas poli(A) se añaden al extremo 3′ de las moléculas de mRNA en un paso de procesamiento postranscripcional. El mRNA se divide primero alrededor de 20 nucleótidos torrente abajo desde una secuencia de reconocimiento AAUAA. Otra enzima, la **poli(A) polimerasa**, añade una cola poli(A) que después se extiende a hasta 200 residuos A. La cola poli(A) parece proteger el extremo 3′ del mRNA contra ataque por la exonucleasa 3′→ 5′ y facilitar la traducción. La presencia o ausencia de la cola poli(A) no determina si una molécula precursora en el núcleo aparece en el citoplasma, porque ninguna molécula de mRNA nuclear con cola poli(A) contribuye al mRNA citoplásmico, ni todas las moléculas de mRNA citoplásmicas contienen colas poli(A) (los mRNA histona son más notables a este respecto). Luego de transporte nuclear, las enzimas citoplásmicas en células de mamífero pueden tanto añadir como eliminar residuos adenililo de las colas poli(A); este proceso se ha vinculado con una alteración de la estabilidad y la traducibilidad del mRNA.

El tamaño de algunas moléculas de mRNA citoplásmicas, incluso después de que se elimina la cola poli(A), aún es considerablemente mayor que el tamaño requerido para codificar para la proteína específica para la cual es un templado (plantilla), a menudo por un factor de 2 o 3. Los nucleótidos extra surgen en regiones no traducidas (no codificadoras para proteína) tanto 5′ como 3′ de la región codificadora; las secuencias no traducidas más largas generalmente están en el extremo 3′. Las secuencias **5′UTR y 3′UTR** han sido implicadas en el procesamiento, el transporte, el almacenamiento, la degradación y la traducción de RNA; cada una de estas reacciones contribuye en potencia con niveles adicionales de control de la expresión del gen; algunos de estos eventos postranscripcionales que incluyen mRNA ocurren en los organelos citoplásmicos llamados cuerpos P (capítulo 37).

Los microRNA se derivan de transcritos primarios grandes por medio de procesamiento nucleolítico específico

Casi todos los miRNA son transcritos por RNA pol II hacia **transcritos primarios** denominados **pri-miRNA**. Los pri-miRNA tienen cubierta 5′ y están poliadenilados en la posición 3′ (**figura 36-17**). Los pri-miRNA se sintetizan a partir de unidades de transcripción que codifican para uno o varios miRNA separados; estas unidades de transcripción están situadas de manera independiente en el genoma o dentro del DNA intrónico de otros genes. Por ende, dada esta organización, los genes que codifican para miRNA deben poseer, como mínimo, un promotor separado, la región codificante y las señales de poliadenilación/terminación. Los pri-miRNA tienen extensa estructura secundaria, y esta estructura intramolecular se mantiene después de procesamiento por la **nucleasa Drosha-DGCR8**; la porción que contiene la horquilla de RNA es preservada, transportada a través del poro nuclear mediante la acción de la exportina 5, y una vez en el citoplasma, procesada más por el **complejo dicer nucleasa-TRBP** heterodimérico a un **21 o 22-mer**. Finalmente, una de las dos cadenas es seleccionada para carga hacia el **complejo silenciador inducido por RNA (RISC)**, que está compuesto de una de cuatro **proteínas argonauta (Ago 1 → 4)**, para formar un miRNA monocatenario de 21 a 22 nt, funcional. Los siRNA se producen de manera similar. Una vez que están en el complejo RISC, los miRNA pueden modular la función del mRNA mediante uno de tres mecanismos: a) al promover directamente la degradación de mRNA; b) al estimular degradación de cola poli A mediada por el complejo CCR4/NOT, o c) inhibición de la traducción al establecer como objetivo el factor de traducción de unión a cubierta 5′-metilo, eIF4 (figuras 37-7 y 37-8), o el ribosoma directamente. Datos recientes sugieren que los genes codificantes para miRNA reguladores pueden estar enlazados a sus genes blanco y, por ende, coevolucionar con ellos.

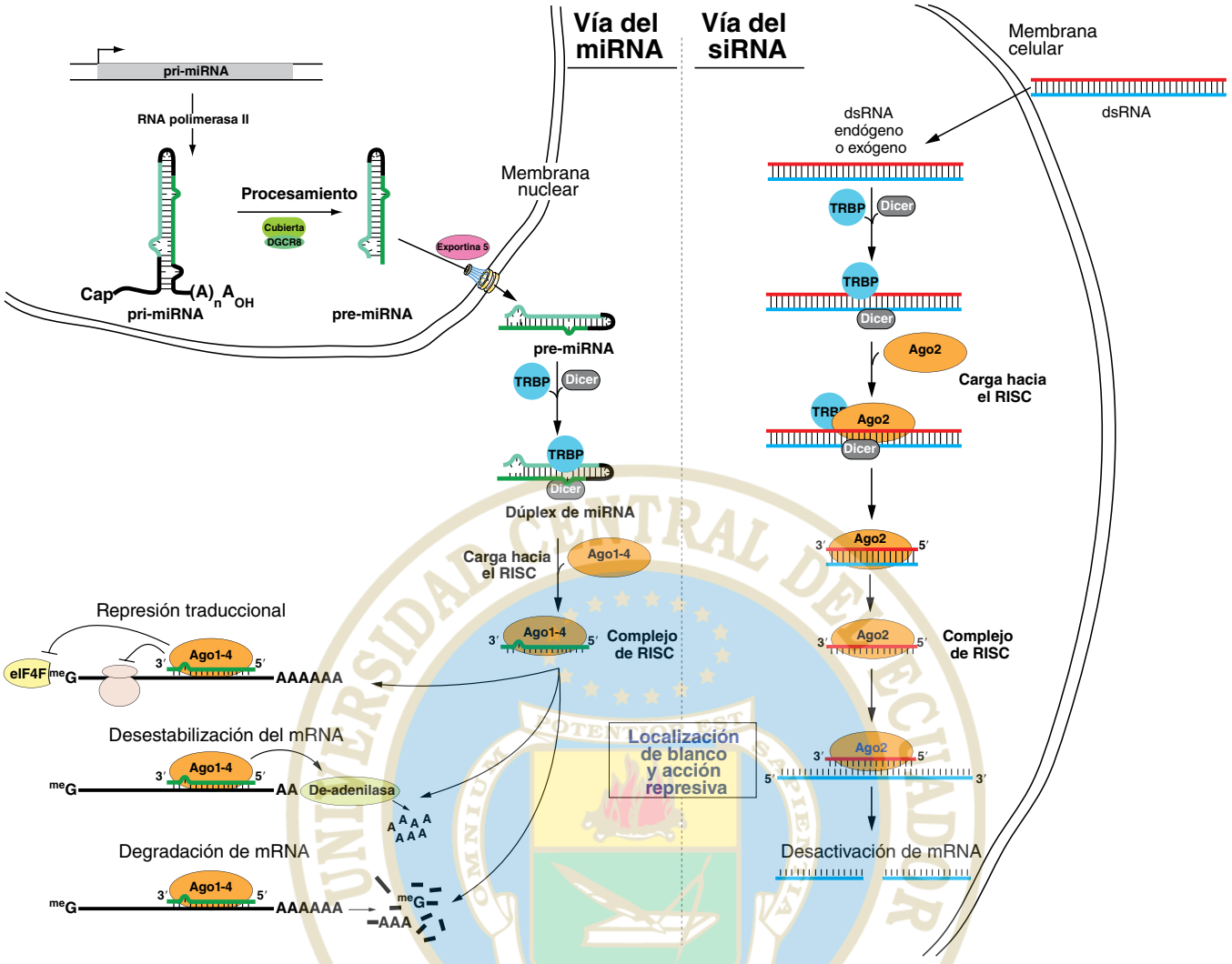


FIGURA 36-17 **Biogénesis de micro (mi) RNA y de RNA silenciadores (si)RNA.** (Izquierda) genes que codifican para miRNA son transcritos por la RNA pol II hacia un miRNA primario (pri-miRNA), que tiene cubierta 5′ y está poliadenilado, como es típico de transcritos primarios que codifican del poro nuclear por la exportina-5. El pre-miRNA citoplasmático a continuación es recortado más por la acción de la nucleasa heterodimérica denominada Dicer (TRBP-Dicer) para mRNA. Este pri-miRNA está sujeto a procesamiento dentro del núcleo por la acción de la Drosha-DGCR8 nucleasa, que recorta secuencias desde los extremos tanto 5′ como 3′ para generar el pre-miRNA. Este RNA bicatenario parcialmente procesado es transportado a través para formar el dúplex de miRNA de 21 a 22 nt. Una de las dos cadenas de RNA de 21 a 22 nucleótidos de largo es seleccionada, el dúplex se desenrolla, y la cadena seleccionada se carga en el complejo silenciador inducido por RNA, o complejo RISC, lo que genera así el miRNA funcional, maduro. Después de ubicación del mRNA blanco y de templar miRNA-mRNA específico para secuencia, el miRNA funcional puede modular la función del mRNA mediante 1 de 3 mecanismos: represión traduccional, desestabilización de mRNA por desadenilación del mRNA, o degradación de mRNA. (Derecha) la vía del siRNA genera siRNA funcionales a partir de RNA bicatenarios grandes que se forman sea dentro de la célula por hibridación RNA-RNA (intermolecular o intramolecular) o a partir de fuentes extracelulares, como virus RNA. Estos dsRNA virales son procesados de nuevo a segmentos de dsRNA siRNA de ~ 22 nt por medio de la Dicer nucleasa heterodimérica, y cargados hacia el complejo RISC que contiene Ago2; a continuación, una cadena es seleccionada para generar el siRNA que localiza secuencias de RNA blanco por medio de templar SiRNA-RNA específico para secuencia. Este complejo de RNA-siRNA-Ago2 ternario induce división del RNA, que desactiva el RNA blanco.

La edición del RNA cambia el mRNA después de la transcripción

El dogma fundamental afirma que para un gen y producto de gen dados hay una relación lineal entre la secuencia codificadora en el DNA, la secuencia en el mRNA y la secuencia de la proteína (figura 35-7). Los cambios en la secuencia del DNA se deben reflejar en un cambio en la secuencia del mRNA y, dependiendo del uso de codón, en la secuencia de proteína. Como quiera que sea, a últimas fechas se han documentado excepciones de esta regla. La información codificadora puede cambiarse en el ámbito del mRNA mediante **edición del RNA**. En esos casos, la secuencia codificadora del mRNA difiere de la que hay en el DNA bicatenario. Un ejemplo es el gen y mRNA que codifican para la apolipoproteína B *(apoB)*. En el hígado, el gen *apoB* único se transcribe hacia un mRNA que dirige la síntesis de una proteína de 100 kDa, la apoB100. En el intestino, el mismo gen dirige la síntesis de la transcripción primaria; de cualquier modo, una citidina desaminasa convierte un codón CAA en el mRNA hacia UAA en un sitio específico único. En lugar de codificar para glutamina, este codón se convierte en una señal de terminación (cuadro 37-1) y el resultado es una proteína truncada de 48 kDa

(apoB48). La ApoB100 y la apoB48 tienen funciones diferentes en los dos órganos. Un número creciente de otros ejemplos comprende un cambio de glutamina a arginina en el receptor de glutamato, y varios cambios en mRNA mitocondriales de tripanosoma, que por lo general incluyen la adición o deleción de uridina. Se desconoce la extensión precisa de la edición del RNA, pero estimados actuales sugieren que < 0.01% de los mRNA se edita de esta manera. Recientemente, se ha descrito edición de miRNA, lo que sugiere que estas dos formas de mecanismos de control postranscripcionales podrían contribuir de modo cooperativo a la regulación de gen.

El RNA de transferencia se procesa y modifica de manera extensa

Las moléculas de tRNA sirven como moléculas adaptadoras para la traducción del mRNA hacia secuencias proteínicas (capítulos 34 y 37). Los tRNA contienen muchas modificaciones de las bases estándar A, U, G y C, entre ellas metilación, reducción, desaminación y enlaces glucosídicos reordenados. La modificación postranscripcional adicional de las moléculas de tRNA comprende alquilaciones de nucleótido y la fijación de la terminal $CpCpA_{OH}$ característica en el extremo 3′ de la molécula por la enzima nucleotidil transferasa. El OH 3′ en la ribosa A es el punto de fijación para el aminoácido específico que va a entrar hacia la reacción de polimerización de la síntesis de proteína. La metilación de precursores de tRNA de mamífero probablemente sucede en el núcleo, mientras que la división y fijación de $CpCpA_{OH}$ son funciones citoplásmicas, puesto que las terminales se recambian con mayor rapidez que las moléculas de tRNA mismas. Las enzimas dentro del citoplasma de células de mamífero se necesitan para la fijación de aminoácidos a los residuos $CpCpA_{OH}$ (capítulo 37).

EL RNA PUEDE ACTUAR COMO UN CATALÍTICO

Además de la acción catalítica proporcionada por los snRNA en la formación de mRNA, se han atribuido varias otras funciones enzimáticas al RNA. Las **ribozimas** son moléculas de RNA con actividad catalítica; por lo regular incluyen reacciones de transesterificación y casi todas muestran vínculo con el metabolismo de RNA (empalme y endorribonucleasa). A últimas fechas, se notó que un componente del RNA ribosómico hidroliza un aminoacil éster y, así, desempeña un papel central en la función de enlace peptídico (peptidil transferasas; capítulo 37). Estas observaciones, hechas usando moléculas de RNA derivadas de los organelos de vegetales, levaduras, virus y otras células eucarióticas superiores, muestran que el RNA puede actuar como una enzima, y han revolucionado el pensamiento respecto a la acción enzimática y el origen de la vida misma.

RESUMEN

- El RNA se sintetiza a partir de una plantilla de DNA por medio de la enzima RNA polimerasa.
- En tanto que las bacterias contienen sólo una poimerasa RNA ($\beta,\beta'\ \alpha_2$), hay tres RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares distintas en mamíferos: RNA polimerasas I, II y III. Estas enzimas catalizan la transcripción de genes que codifican para rRNA (Pol I), mRNA/miRNA (Pol II) y tRNA y rRNA 5S (Pol III).
- Las RNA polimerasas interactúan con regiones *cis*-activas singulares de genes, denominadas promotores, para formar complejos de preinicio (PIC) que tienen la capacidad de inicio. En eucariotas el proceso de la formación de PIC pol II requiere, además de polimerasa, múltiples factores de transcripción generales (GTF), TFIIA, B, D, E, F y H.
- La formación de PIC eucariótico puede ocurrir sobre promotores accesibles por pasos (mediante las interacciones ordenadas secuenciales de GTF y RNA polimerasa con promotores de DNA) o en un paso por medio del reconocimiento del promotor por un complejo de GTF-holoenzima RNA polimerasa preformado.
- La transcripción muestra tres fases: inicio, alargamiento y terminación. Todas dependen de elementos *cis* de DNA separados, y están moduladas por factores proteínicos de acción *trans* separados.
- La presencia de nucleosomas puede ocluir la unión tanto de cofactores como de la maquinaria de transcripción a sus elementos *cis* de DNA cognados, lo que inhibe la transcripción.
- Casi todos los RNA eucarióticos se sintetizan como precursores que contienen secuencias excesivas que se eliminan antes de la generación de RNA maduro, funcional. Estas reacciones de procesamiento proporcionan pasos potenciales adicionales para la regulación de la expresión de genes.
- La síntesis de mRNA eucarióticos origina un precursor pre-mRNA que contiene mucho RNA excesivo (intrones) que se debe eliminar con precisión mediante empalme de RNA para generar mRNA traducible, funcional, compuesto de secuencias codificadoras exónicas, y 5′ y 3′ no codificadoras.
- Todos los pasos, desde cambios en la plantilla, secuencia y accesibilidad de DNA en la cromatina, hasta estabilidad y traducibilidad de RNA, están sujetos a modulación y, por consiguiente, son los sitios de control potenciales para la regulación de gen eucariótico.

REFERENCIAS

Bourbon H-M, Aguilera A, Ansari AZ, *et al*: A unified nomenclature for protein subunits of mediator complexes linking transcriptional regulators to RNA polymerase II. Mol Cell 2004;14:553-537.

Buchan JR, Parker R: Eukaryotic stress granules: the ins and outs of translation. Mol Cell 2009;36:932-941.

Decker KB, Hinton DM: Transcription regulation at the core: similarities among bacterial, archaeal, and eukaryotic RNA polymerases. Annu Rev Microbiol 2013;67:113-139.

Elkon R, Ugalde AP, Agami R: Alternative cleavage and polyadenylation: extent, regulation and function. Nat Rev Genet 2013;14:496-506.

Marcia M, Pyle AM: Visualizing group II intron catalysis through the stages of splicing. Cell 2012:151:497-507.

Geisler S, Coller J: RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. Nat Rev Mol Cell Biol 2013;14:699-712.

He Y, Fang J, Taatjes DJ, Nogales E: Structural visualization of key steps in human transcription initiation. Nature 2013;495:481-486.

Hood JL, Emeson RB: Editing of neurotransmitter receptor and ion channel RNAs in the nervous system. Curr Top Microbiol Immunol 2012;353:61-90.

Hsin JP, Manley JL: The RNA polymerase II CTD coordinates transcription and RNA processing. Genes Dev 2012;26:2119-2137.

Kassube SA, Fang J, Grob P, Yakovchuk P, Goodrich JA, Nogales E: Structural insights into transcriptional repression by noncoding RNAs that bind to human Pol II. J Mol Biol 2013;425:3639-3648.

Kawauchi J, Mischo H, Braglia P, *et al*: Budding yeast RNA polymerases I and II employ parallel mechanisms of transcriptional termination. Genes Dev 2008;22:1082-1092.

Keaveney M, Struhl K: Activator-mediated recruitment of the RNA polymerase machinery is the predominant mechanism for transcriptional activation in yeast. Mol Cell 1998;1:917-924.

Kornblihtt AR, Schor IE, Alló M, Dujardin G, Petrillo E, Muñoz MJ: Alternative splicing: a pivotal step between eukaryotic transcription and translation. Nat Rev Mol Cell Biol 2013;14:153-165.

Mapendano CK, Lykke-Andersen S, Kjems J, *et al*: Crosstalk between mRNA 3′ end processing and transcription initiation Mol Cell 2010;40:410-422.

Mauger DM, Siegfried NA, Weeks KM: The genetic code as expressed through relationships between mRNA structure and protein function. FEBS Lett 2013 587:1180-1188.

Murakami K, Elmlund H, Kalisman N, Bushnell DA, Adams CM, Azubel M, Elmlund D, Levi-Kalisman Y, Liu X, Gibbons BJ, Levitt M, Kornberg RD: Architecture of an RNA polymerase II transcription pre-initiation complex. Science 2013;342:1238724.

Nechaev S, Adelman K: Pol II waiting in the starting gates: regulating the transition from transcription initiation into productive elongation. Biochim Biophys Acta 2011;1809:34-45.

Ørom UA, Shiekhattar R: Long noncoding RNAs usher in a new era in the biology of enhancers. Cell 2013 154:1190-1193.

Pawlicki JM, Steitz JA: Nuclear networking fashions pre-messenger RNA and primary microRNA transcripts for function. Trends Cell Biol 2010; 20:52-61.

Proudfoot NJ: Ending the message: poly(A) signals then and now. Genes Dev 2011; 25:1770-1782.

Reed R, Cheng H: TREX, SR proteins and export of mRNA. Curr Opin Cell Biol 2005;17:269-273.

Rhee HS, Pugh BF: Genome-wide structure and organization of eukaryotic pre-initiation complexes. Nature 2012;483:295-301.

Tian B, Manley JL: Alternative cleavage and polyadenylation: the long and short of it. Trends Biochem Sci 2013;38:312-320.

West S, Proudfoot NJ, Dye MJ, *et al*: Molecular dissection of mammalian RNA polymerase II transcriptional termination. Mol Cell 2008;29:600-610.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 37

Síntesis de proteína y el código genético

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender que el código genético es un código de nucleótidos, de tres letras, que está codificado en la disposición lineal del DNA de exón (compuesto de tripletes de A, G, C y T) de genes que codifican para proteína, y que este código de tres letras es traducido hacia mRNA (compuesto de tripletes de A, G, C y U) para especificar el orden lineal de la adición de aminoácidos durante la síntesis de proteína por medio del proceso de traducción.
- Apreciar que el código genético universal es degenerado, no ambiguo, sin superposición y sin puntuación.
- Explicar que el código genético está compuesto de 64 codones, 61 de los cuales codifican para aminoácidos, mientras que tres inducen la terminación de la síntesis de proteína.
- Explicar cómo los RNA de transferencia (tRNA) sirven como los agentes informativos finales que descodifican el código genético de mRNA.
- Entender el mecanismo del proceso intensivo en cuanto a energía de síntesis de proteína que ocurre en complejos de RNA-proteína llamados ribosomas.
- Apreciar que la síntesis de proteína, al igual que la replicación de DNA y la transcripción del mismo, está controlada por medio de la acción de múltiples factores accesorios que tienen capacidad de respuesta a múltiples señales reguladoras extracelulares e intracelulares.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FUNDADA EN 1620
QUITO

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las letras A, G, T y C corresponden a los nucleótidos que se encuentran en el DNA. Dentro de los genes que codifican para proteína, estos nucleótidos están organizados en palabras de código de tres letras llamadas **codones**, y el conjunto de estos codones constituye el **código genético**. Antes de que se elucidara el código genético, era imposible entender la síntesis de proteína, o explicar las mutaciones. El código proporciona un fundamento para explicar la manera en la cual los defectos de proteína pueden causar enfermedad genética, y para el diagnóstico y quizás el tratamiento de estos trastornos. Además, la fisiopatología de muchas infecciones virales se relaciona con la capacidad de estos agentes infecciosos para alterar la síntesis de proteína de la célula huésped. Muchos antibacterianos son eficaces porque alteran de manera selectiva la síntesis de proteína en la célula bacteriana invasora, pero no afectan dicha síntesis en células eucarióticas.

LA INFORMACIÓN GENÉTICA FLUYE DESDE EL DNA HACIA EL RNA, Y HACIA PROTEÍNA

La información genética dentro de la secuencia de nucleótido del DNA se transcribe en el núcleo hacia la secuencia de nucleótido específica de una molécula de RNA. La secuencia de nucleótidos en la transcripción de RNA es complementaria a la secuencia de nucleótido de la cadena plantilla de este gen de acuerdo con las reglas de la formación de pares de bases. Varias clases de RNA se combinan para dirigir la síntesis de proteínas.

En procariotas hay una correspondencia lineal entre el gen, el **RNA mensajero (mRNA)** transcrito a partir del gen, y el producto polipeptídico. La situación es más complicada en células eucarióticas superiores, en las cuales la transcripción primaria es de mucho mayor tamaño que el mRNA maduro. Los precurso-

res de mRNA grandes contienen regiones codificadoras **(exones)** que formarán el mRNA maduro, y secuencias interpuestas largas **(intrones)** que separan a los exones. El mRNA se procesa dentro del núcleo, y los intrones, que a menudo constituyen mucho más de este RNA que los exones, se eliminan. Los exones se empalman entre sí para formar el mRNA maduro, que se transporta hacia el citoplasma, donde se traduce hacia proteína.

La célula debe poseer la maquinaria necesaria para traducir con exactitud y eficacia la información desde la secuencia de nucleótidos de un mRNA hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína específica correspondiente. Para lograr el entendimiento de este proceso, que se llama **traducción**, hubo que esperar a que se descifrara el código genético. Desde el principio quedó de manifiesto que las moléculas de mRNA mismas carecen de afinidad por aminoácidos y, por ende, que la traducción de la información en la secuencia de nucleótido del mRNA hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína requiere una molécula adaptadora intermedia, que debe reconocer una secuencia de nucleótido específica por un lado, así como un aminoácido específico por el otro. Con esa molécula adaptadora, la célula puede dirigir a un aminoácido específico hacia la posición secuencial apropiada de una proteína durante su síntesis, según lo dicta la secuencia de nucleótido del mRNA específico. De hecho, los grupos funcionales de los aminoácidos no entran en contacto real por sí mismos con la plantilla de mRNA.

LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDO DE UNA MOLÉCULA DE mRNA CONTIENE UNA SERIE DE CODONES QUE ESPECIFICAN LA SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS DE LA PROTEÍNA CODIFICADA

Se requieren 20 aminoácidos diferentes para la síntesis de la totalidad de las proteínas celulares; de este modo, debe haber al menos 20 codones distintos que constituyen el código genético. Dado que sólo hay cuatro nucleótidos diferentes en el mRNA, cada codón debe constar de más de un nucleótido purina o pirimidina único. Los codones que constan de dos nucleótidos cada uno sólo podrían proporcionar 16 (4^2) codones específicos, mientras que los de tres nucleótidos podrían aportar 64 (4^3) codones específicos.

Ahora se sabe que cada codón consta de una secuencia de tres nucleótidos; esto es, **es un código triplete** (**cuadro 37-1**). El descifrado inicial del **código genético** dependió mucho de la síntesis *in vitro* de polímeros de nucleótido, en particular tripletes en secuencia repetida. Estos ribonucleótidos tripletes sintéticos se usaron como mRNA para programar las síntesis de proteína en el tubo de ensayo, lo que permitió a los investigadores deducir el código genético.

EL CÓDIGO GENÉTICO ES DEGENERADO, NO AMBIGUO, SIN SUPERPOSICIÓN, SIN PUNTUACIÓN Y UNIVERSAL

Tres de los 64 codones posibles no codifican para aminoácidos específicos; éstos se han denominado **codones sin sentido**, y se utilizan en la célula como **señales de terminación**; especifican dónde va a detenerse la polimerización de aminoácidos hacia una molécula de proteína. **Los 61 codones restantes codifican para los 20 aminoácidos que naturalmente existen** (cuadro 37-1). De este modo, hay **"degeneración"** en el código genético; esto es, múltiples codones decodifican el mismo aminoácido. Algunos aminoácidos son codificados en varios codones; por ejemplo, seis codones diferentes, UCU, UCC, UCA, UCG, AGU y AGC especifican serina. Otros aminoácidos, como la metionina y el triptófano, tienen un solo codón. En general, el tercer nucleótido en un codón tiene menos importancia que los dos primeros en la determinación del aminoácido específico que se va a incorporar, y esto explica la mayor parte de la degeneración del código. Sin embargo, para cualquier codón específico, sólo está indicado un aminoácido único específico; con raras excepciones, el código genético es **no ambiguo**; esto es, dado un codón específico, sólo un aminoácido único está indicado. **La distinción entre ambigüedad y degeneración es un concepto importante**.

El código no ambiguo pero degenerado puede explicarse en términos moleculares. El reconocimiento de codones específicos en el mRNA por las moléculas adaptadoras tRNA depende de su **región anticodón** y de reglas de formación de pares de bases específicas que determinan la unión del codón tRNA-mRNA. Cada molécula de tRNA contiene una secuencia específica, complementaria a un

CUADRO 37-1 El código genético[a] (asignaciones de codón en RNA mensajeros de mamífero)

Primer nucleótido	Segundo nucleótido U	C	A	G	Tercer nucleótido
U	Fen	Ser	Tir	Cis	U
	Fen	Ser	Tir	Cis	C
	Leu	Ser	Term	Term[b]	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Tre	Asn	Ser	U
	Ile	Tre	Asn	Ser	C
	Ile[a]	Tre	Lis	Arg[b]	A
	Met	Tre	Lis	Arg[b]	G
G	Val	Ala	Asp	Gli	U
	Val	Ala	Asp	Gli	C
	Val	Ala	Glu	Gli	A
	Val	Ala	Glu	Gli	G

[a] Los términos primer, segundo y tercer nucleótido se refieren a los nucleótidos individuales de un codón triplete, lectora 5′ a 3′, de izquierda a derecha. U, nucleótido uridina; C, nucleótido citocina; A, nucleótido adenina; G, nucleótido guanina; Term, codón terminador de cadena. AUG, que codifica para Met, sirve como el codón iniciador en células de mamífero, y codifica también para metioninas internas en una proteína. (Las abreviaturas de los aminoácidos se explican en el capítulo 3).

[b] En mitocondrias de mamífero, AUA codifica para Met, y UGA para Trp, y AGA y AGG sirven como terminadores de cadena.

codón, que se denomina su anticodón. Para un codón dado en el mRNA, sólo una especie única de molécula de tRNA posee el anticodón apropiado. Dado que cada molécula de tRNA puede cargarse con sólo un aminoácido específico, cada codón, por ende, sólo especifica un aminoácido. Sin embargo, algunas moléculas de tRNA pueden utilizar el anticodón para reconocer más de un codón. **Con pocas excepciones, dado un codón específico, sólo un aminoácido específico se incorporará, aunque, dado un aminoácido específico, puede usarse más de un codón.**

La lectura del código genético durante el proceso de síntesis de proteína no comprende superposición de codones (véase más adelante). **De este modo, el código genético no tiene superposición.** Además, una vez que la lectura comienza en un codón inicial específico, **no hay puntuación** entre los codones, y el mensaje se lee en una secuencia continua de tripletes de nucleótido hasta que se llega a un codón de parada (también denominado de terminación o finalizador) de la traducción.

Hasta hace poco, se creía que el código genético era universal. Ahora se ha mostrado que el juego de moléculas de tRNA en las mitocondrias (que contienen su propio juego, separado y distinto de maquinaria de traducción) de eucariotas inferiores y superiores, incluso seres humanos, lee cuatro codones de manera diferente a partir de las moléculas de tRNA en el citoplasma de incluso las mismas células. Como se muestra en el cuadro 37-1, en mitocondrias de mamífero, el codón AUA se lee como Met, y UGA codifica para Trp. Además, en las mitocondrias, los codones AGA y AGG se leen como codones de parada o terminadores de cadena, más que como Arg. Como resultado de estos cambios específicos para organelo en el código genético, las mitocondrias sólo requieren 22 moléculas de tRNA para leer su código genético, mientras que el sistema de traducción citoplásmico posee 31 especies de tRNA en total. Una vez notadas estas excepciones, **el código genético es universal**. La frecuencia de uso de cada codón de aminoácido varía considerablemente entre las especies y entre diferentes tejidos dentro de una especie. Las concentraciones de tRNA específico por lo general reflejan estos sesgos de uso de codón. De este modo, un codón particular que se usa de manera abundante se decodifica por medio de un tRNA específico con abundancia semejante que reconoce ese codón particular. Los cuadros de **uso de codón** se están haciendo más exactos a medida que se efectúa secuenciación de más genes y genomas; esa información puede resultar vital para la producción a gran escala de proteínas para propósitos terapéuticos (esto es, insulina, eritropoyetina). Esas proteínas a menudo se producen en células no humanas usando tecnología de DNA recombinante (capítulo 39). En el **cuadro 37-2** se listan las principales características del código genético.

CUADRO 37-2 Características del código genético

- Degenerado
- No ambiguo
- Sin superposición
- Sin puntuación
- Universal

AL MENOS UNA ESPECIE DE RNA DE TRANSFERENCIA (tRNA) EXISTE PARA CADA UNO DE LOS 20 AMINOÁCIDOS

Las moléculas de tRNA tienen funciones y estructuras tridimensionales extraordinariamente similares. La función adaptadora de las moléculas de tRNA requiere la carga de cada tRNA específico con su aminoácido específico. Dado que no hay afinidad de ácidos nucleicos por grupos funcionales específicos de aminoácidos, este reconocimiento debe llevarse a cabo mediante una molécula de proteína capaz de reconocer tanto una molécula de tRNA específico como un aminoácido específico. Se requieren al menos 20 enzimas específicas para estas funciones de reconocimiento, y para la fijación apropiada de los 20 aminoácidos a moléculas de tRNA específicas. El proceso de **reconocimiento y fijación** (**carga**) que requiere energía procede en dos pasos, y es catalizado por una enzima para cada uno de los 20 aminoácidos; estas enzimas se llaman **aminoacil-tRNA sintetasas**. Forman un complejo intermedio activado de aminoacilo-AMP-enzima (**figura 37-1**). El complejo de aminoacilo-AMP-enzima específico a continuación reconoce un tRNA específico al cual fija la porción aminoacilo en la terminal 3′-hidroxilo adenosilo. Las reacciones de carga tienen un índice de error de menos de 10^{-4}

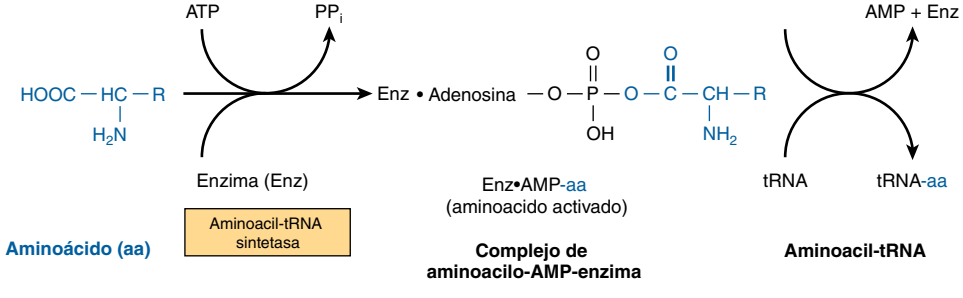


FIGURA 37-1 Formación de aminoacil-tRNA. Una reacción de dos pasos, que comprende la enzima aminoacil-tRNA sintetasa, da por resultado la formación de aminoacil-tRNA. La primera reacción comprende la formación de un complejo de AMP-aminoácido-enzima; este aminoácido activado a continuación se transfiere hacia la molécula de tRNA correspondiente. El AMP y la enzima se liberan, y esta última puede volver a utilizarse. Las reacciones de carga tienen un índice de error (esto es, esterificación del aminoácido incorrecto en tRNAx) de menos de 10^{-4}.

y, así, son bastante exactas. El aminoácido permanece fijo a su tRNA específico en un enlace éster en tanto no se polimeriza en una posición específica en la fabricación de un precursor polipeptídico de una molécula de proteína.

Las regiones de la molécula de tRNA a las que se hace referencia en el capítulo 34 (y que se ilustran en la figura 34-11) ahora adquieren importancia. El extremo citidina seudouridina ribotimidina (TψC) participa en la unión del aminoacil-tRNA a la superficie ribosómica en el sitio de síntesis de proteína. El brazo D es uno de los centros importantes para el reconocimiento apropiado de una especie de tRNA dada por su aminoacil-tRNA sintetasa apropiada. El brazo aceptor, localizado en la terminal 3′-hidroxilo adenosilo, es el sitio de fijación del aminoácido específico.

La región anticodón (brazo) consta de siete nucleótidos, y reconoce el codón de tres letras en el mRNA (**figura 37-2**). La lectura de secuencia desde la dirección 3′ hacia 5′ en esa asa anticodón consta de una base variable (N) purina modificada (Pu)-XYZ (el anticodón)-pirimidina (Py)-pirimidina (Py)-5′. Note que esta dirección de lectura del anticodón es 3′a 5′, mientras el código genético que aparece en el cuadro 37-1 se lee 5′ a 3′, dado que **el codón y el asa anticodón de las moléculas de mRNA y tRNA, respectivamente, son antiparalelos en su complementariedad** del mismo modo que todas las otras interacciones intermoleculares entre cadenas de ácido nucleico.

La degeneración del código genético reside en su mayor parte en el último nucleótido del triplete codón, lo que sugiere que la formación de pares de bases entre este último nucleótido y el nucleótido correspondiente del anticodón no ocurre de manera estricta con base en la regla de Watson-Crick. Esto se llama **bamboleo**; la formación de pares del codón y anticodón puede "bambolear" en este sitio de formación de par de nucleótido a nucleótido específico. Por ejemplo, los dos codones para la arginina, AGA y AGG, pueden unirse al mismo anticodón que tiene un uracilo en su extremo 5′ (UCU). De modo similar, tres codones para glicina (GGU, GGC y GGA) pueden formar un par de bases a partir de un anticodón, 3′ CCI 5′ (esto es, I, inosina, puede formar par de base con U, C y A). La inosina es generada mediante desaminación de adenina (véase la estructura en la figura 33-2).

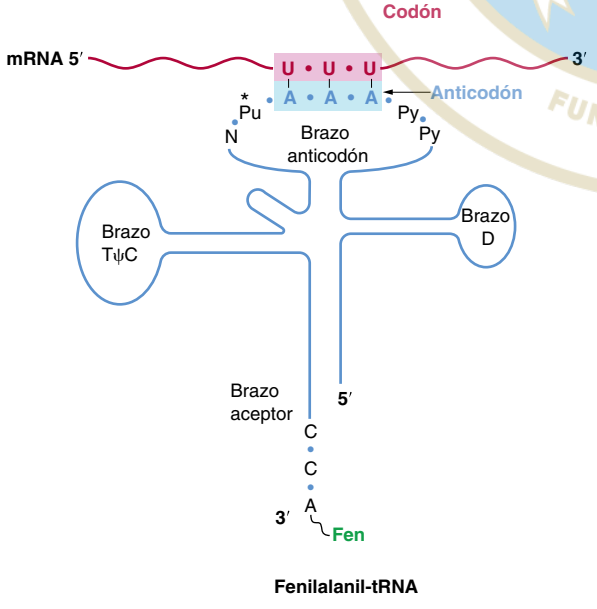


FIGURA 37-2 **Reconocimiento del codón por el anticodón.** Uno de los codones para fenilalanina es UUU. El tRNA cargado con fenilalanina (Fen) tiene la secuencia complementaria AAA; por ende, forma un complejo de par de base con el codón. La región anticodón típicamente consta de una secuencia de siete nucleótidos: variable (N), purina modificada (PU*), X, Y, Z (aquí, AAA), y dos pirimidinas (Py) en la dirección 3′ a 5′.

CUANDO OCURREN CAMBIOS EN LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDO SE PRODUCEN MUTACIONES

Aunque el cambio inicial puede no ocurrir en la cadena plantilla de la molécula de DNA bicatenaria para ese gen, después de la replicación, moléculas de DNA hijas con mutaciones en la cadena plantilla se segregarán y aparecerán en la población de organismos.

Algunas mutaciones ocurren por sustitución de base

Los cambios de base únicos (**mutaciones puntuales**) pueden ser **transiciones** o **transversiones**. En las primeras, una pirimidina dada se cambia a la otra pirimidina, o una purina dada se cambia a la otra purina. Las transversiones son cambios de una purina a una u otra de las dos pirimidinas, o el cambio de una pirimidina hacia una u otra de las dos purinas (**figura 37-3**).

Cuando la secuencia de nucleótido del gen que codifica proteína contiene la mutación se transcribe hacia una molécula de RNA, la molécula de RNA por supuesto poseerá el cambio de base en la ubicación correspondiente.

Los cambios de base únicos en el mRNA pueden tener uno de varios efectos cuando se traducen hacia proteína:

1. Puede haber efecto detectable nulo debido a la degeneración del código; esas mutaciones a menudo se denominan **mutaciones silentes**. Esto sería más probable si la base cambiada en la molécula de mRNA fuera a estar en el tercer nucleótido de un codón. Debido a bamboleo, la traducción de un codón es menos sensible a un cambio en la posición tercera.
2. Ocurrirá un **efecto de sentido equivocado** (o de sentido alterado) cuando se incorpora un aminoácido distinto en el sitio correspondiente en la molécula de proteína. Este aminoácido equivocado (o de sentido equivocado, dependiendo de su ubicación en la proteína específica) podría ser aceptable, parcialmente aceptable, o inaceptable para la función de esa molécula de proteína. A partir de un examen cuidadoso del

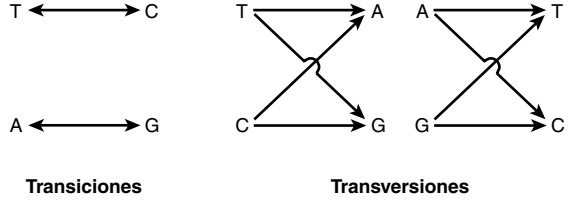


FIGURA 37-3 **Representación esquemática de mutaciones por transición y mutaciones por transversión.**

código genético, puede concluirse que casi todos los cambios de base única darían por resultado el reemplazo de un aminoácido por otro con grupos funcionales más bien similares. Éste es un mecanismo eficaz de "amortiguación" para evitar cambio drástico de las propiedades físicas de una molécula de proteína. Si ocurre un efecto de sentido equivocado aceptable, la molécula de proteína resultante puede no ser distinguible de la normal. Un sentido equivocado parcialmente aceptable dará por resultado una molécula de proteína con función parcial pero anormal. Si ocurre un efecto de sentido equivocado inaceptable, la molécula de proteína será incapaz de funcionar de manera normal.

3. Puede aparecer un codón **sin sentido** que después daría por resultado la **terminación prematura** de traducción y la producción de sólo un fragmento de la molécula de proteína proyectada. Hay probabilidad alta de que la terminación prematura de una molécula de proteína o de un fragmento de péptido hará que no funcione en su papel normal. En las **figuras 37-4** y **37-5** se presentan ejemplos de los diferentes tipos de mutaciones, y sus efectos sobre el potencial codificador del mRNA.

Las mutaciones por cambio de cuadro se producen por deleción o inserción de nucleótidos en el DNA, que genera mRNA alterados

La deleción de un nucleótido único de la cadena codificadora de un gen da por resultado un cuadro de lectura alterado en el mRNA. La maquinaria que traduce el mRNA no reconoce que falta una base, puesto que no hay puntuación en la lectura de codones. De este modo, se produce una alteración importante de la secuencia de aminoácidos polimerizados (figura 37-5, ejemplo 1). Alterar el cuadro de lectura da por resultado una traducción incomprensible del mRNA en posición distal a la deleción de nucleótido único. La secuencia de aminoácidos en posición distal a esta deleción no sólo es incomprensible, sino que la lectura del mensaje también puede dar por resultado la aparición de un codón sin sentido y, así, la producción de un polipéptido tanto incomprensible como terminado de manera prematura (figura 37-5, ejemplo 3).

Si tres nucleótidos de un múltiplo de tres se eliminan de una región codificadora, la traducción del mRNA correspondiente generará una proteína en la cual falta el número correspondiente de aminoácidos (figura 37-5, ejemplo 2). Dado que el cuadro de lectura es un triplete, la fase de lectura no estará alterada para esos codones en posición distal a la deleción. Sin embargo, si hay deleción de uno o dos nucleótidos justo antes del codón de terminación normal o dentro del mismo (codón sin sentido), la lectura de la señal de terminación normal se altera. Esa deleción podría originar lectura a través de la señal de terminación ahora "mutada" en tanto no se encuentra otro codón sin sentido (figura 37-5, ejemplo 1).

Las inserciones de uno o dos no múltiplos de tres nucleótidos en un gen dan por resultado un mRNA en el cual el cuadro de lectura se deforma en el momento de la traducción, y los mismos efectos que ocurren con las deleciones se reflejan en la traducción del mRNA. Esto puede dar por resultado secuencias de aminoácido incomprensibles en posición distal a la inserción, y la generación de un **codón sin sentido** en la inserción o en posición distal a la misma, o quizá lectura a través del codón de terminación normal. Después de una deleción en un gen, una

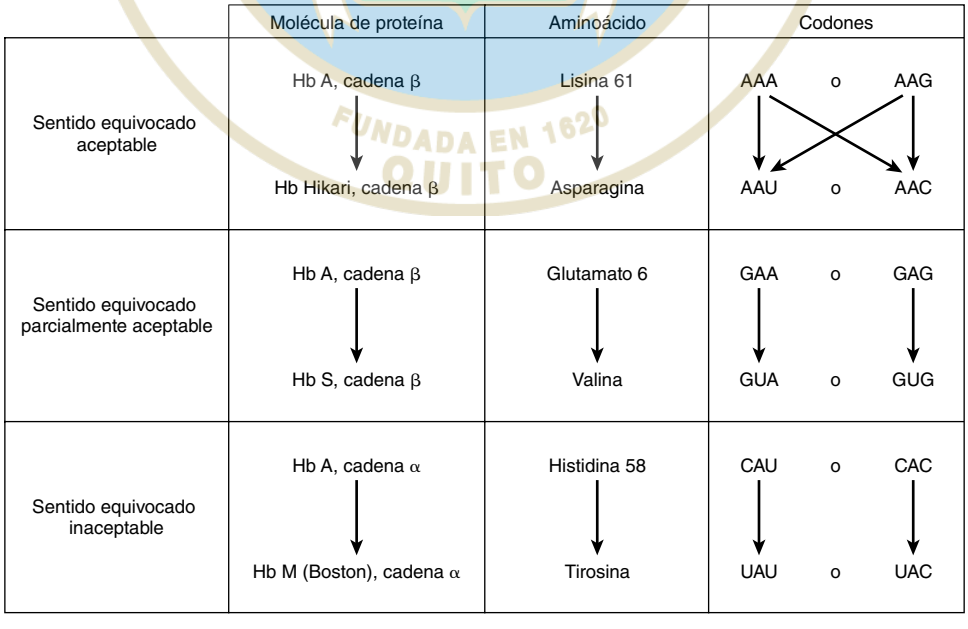


FIGURA 37-4 Ejemplos de tres tipos de mutaciones de sentido equivocado que dan por resultado cadenas de hemoglobina anormales. Se indican las alteraciones de aminoácido y posibles alteraciones en los codones respectivos. La hemoglobina Hikari, con mutación de la cadena β, al parecer tiene propiedades fisiológicas normales, pero está alterada desde el punto de vista electroforético. La hemoglobina S tiene una mutación de la cadena β y función parcial; la hemoglobina S se une al oxígeno pero se precipita cuando se desoxigena; esto causa que los eritrocitos tomen forma de hoz y representa la base molecular y celular de la anemia de células falciformes (figura 6-13). La hemoglobina M Boston, una mutación de la cadena α, permite la oxidación del hierro ferroso hem hacia el estado férrico y, así, no se unirá al oxígeno.

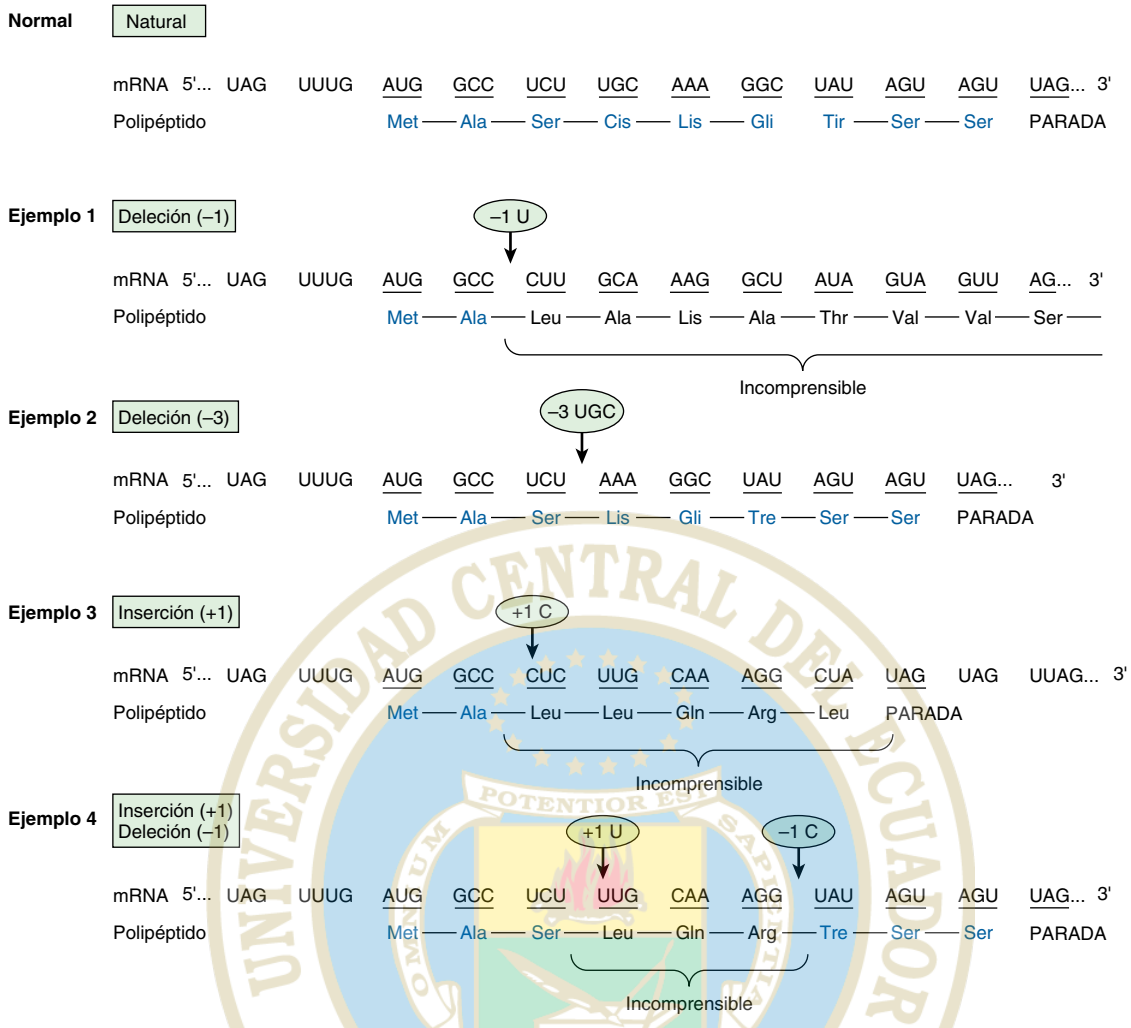


FIGURA 37-5 Ejemplos de los efectos de deleciones e inserciones en un gen sobre la secuencia de la transcripción de mRNA y la cadena polipeptídica traducida desde ese lugar. La flecha indica los sitios de deleciones o inserciones, y los números en los óvalos indican el número de residuos de nucleótido eliminados o insertados. El color en aminoácidos indica aminoácidos en el orden correcto.

inserción (o viceversa) puede restablecer el cuadro de lectura apropiado (figura 37-5, ejemplo 4). El mRNA correspondiente, cuando se tradujera, contendría una secuencia de aminoácido incomprensible entre la inserción y la deleción. Más allá del restablecimiento del cuadro de lectura, la secuencia de aminoácido sería correcta. Puede imaginarse que diferentes combinaciones de deleciones, de inserciones, o de ambas, darían por resultado la formación de una proteína en la cual una porción es anormal pero está rodeada por las secuencias de aminoácidos normales. Esos fenómenos se han demostrado de manera convincente en diversas enfermedades.

Las mutaciones supresoras pueden contrarrestar algunos de los efectos de las mutaciones de sentido equivocado, sin sentido y por cambio de cuadro

La exposición anterior de los productos proteínicos alterados de mutaciones de gen se basa en la presencia de moléculas de tRNA que funcionan normalmente. Sin embargo, en organismos procarióticos y en organismos eucarióticos inferiores, se han descubierto moléculas de tRNA que funcionan de manera anormal, y que son por sí mismas resultados de mutaciones. Algunas de estas moléculas de tRNA anormal tienen la capacidad de unirse a codones alterados, y de decodificarlos, lo que suprime los efectos de mutaciones en distintos genes estructurales que codifican para mRNA mutados. Estas **moléculas de tRNA supresor**, que por lo general se forman como resultado de alteraciones en sus regiones anticodón, tienen la capacidad de suprimir ciertas mutaciones de sentido equivocado, sin sentido y por cambio de cuadro. Sin embargo, dado que las moléculas de tRNA supresoras son incapaces de distinguir entre un codón normal y uno que se produce por una mutación de gen, su presencia en la célula microbiana por lo general da por resultado viabilidad disminuida. Por ejemplo, las moléculas de tRNA supresoras sin sentido pueden suprimir las señales de terminación normales para permitir una lectura continua cuando no es deseable. Las moléculas de tRNA supresoras de cambio de cuadro pueden leer un codón normal más un componente de un codón yuxtapuesto para proporcionar un cambio de cuadro, también cuando

es indeseable. Las moléculas de tRNA supresoras pueden existir en células de mamífero, dado que en ocasiones se ha observado lectura continua de la traducción. En el contexto de laboratorio, estos tRNA supresores, junto con variantes mutadas de aminoacil tRNA sintetasas, pueden utilizarse para incorporar aminoácidos no naturales hacia ubicaciones definidas dentro de genes alterados que portan mutaciones sin sentido producidas mediante procedimientos de ingeniería. Las proteínas marcadas resultantes pueden usarse para entrecruzamiento *in vivo* e *in vitro* y para estudios biofísicos. Este nuevo recurso ayuda mucho a biólogos interesados en el estudio de los mecanismos de una amplia gama de procesos biológicos.

AL IGUAL QUE LA TRANSCRIPCIÓN, LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA PUEDE DESCRIBIRSE EN TRES FASES: INICIO, ALARGAMIENTO Y TERMINACIÓN

Las características estructurales generales de los ribosomas y su proceso de automontaje se comentan en el capítulo 34. Estas entidades particuladas sirven como la maquinaria en la cual la secuencia de nucleótido del mRNA se traduce hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína especificada. La traducción del mRNA comienza cerca de su terminal 5′, con la formación del amino terminal correspondiente de la molécula de proteína. El mensaje se lee de 5′ a 3′, y concluye con la formación del carboxilo terminal de la proteína. De nuevo, el concepto de **polaridad** queda de manifiesto. La transcripción de un gen hacia el mRNA correspondiente o su precursor forma primero la terminal 5′ de la molécula de RNA (capítulo 36). En procariotas, esto permite el inicio de la traducción del mRNA antes de que se complete la transcripción del gen. En organismos eucarióticos, el proceso de transcripción es nuclear; en tanto la traducción del mRNA ocurra en el citoplasma, evitará la transcripción y traducción simultáneas en organismos eucarióticos y hará posible el procesamiento necesario para generar mRNA maduro a partir de la transcripción primaria.

El inicio comprende varios complejos de proteína-RNA

El inicio de la síntesis de proteína requiere que un ribosoma seleccione una molécula de mRNA para traducción (**figura 37-6**). Una vez que el mRNA se une al ribosoma, este último encuentra el codón de inicio y establece el cuadro de lectura correcto en el mRNA, y la traducción empieza. Este proceso comprende tRNA, rRNA, mRNA, y al menos 10 factores de inicio eucarióticos (**eIF**), algunos de los cuales tienen múltiples subunidades (3 a 8). También participan GTP, ATP y aminoácidos. El inicio puede dividirse en cuatro pasos: 1) disociación del ribosoma hacia las subunidades 40S y 60S; 2) unión de un complejo ternario que consta del **iniciador met-RNA** (**met-tRNA^{i}**), GTP, y **eIF-2** al ribosoma 40S para formar el **complejo de preinicio 43S**; 3) unión de mRNA al complejo de preinicio 40S para formar el **complejo de inicio 48S**, y 4) combinación del complejo de inicio 48S con la subunidad ribosómica 60S para formar el **complejo de inicio 80S**.

Disociación ribosómica

Dos factores de inicio, **eIF-3** y **eIF-1A**, se unen a la subunidad ribosómica 40S recién disociada. Esto retrasa su reasociación con la unidad 60S, y permite que otros factores de inicio de la traducción se asocien con la subunidad 40S.

Formación del complejo de preinicio 43S

El primer paso en este proceso comprende la unión de GTP por eIF-2. Este complejo binario a continuación se une a tRNA^{i} met, un tRNA que participa de manera específica en la unión al codón de inicio AUG. (Es importante notar que hay dos tRNA para metionina. Uno especifica metionina para el codón iniciador y el otro para metioninas internas. Cada uno tiene una secuencia de nucleótido singular; ambos son aminoacilados por la misma metionil tRNA sintetasa.) El complejo ternario GTP-eIF2-tRNA^{i} se une a la subunidad ribosómica 40S para formar el complejo de preinicio 43S, que se estabiliza mediante asociación con eIF-3 y eIF-1A.

El eIF-2 es uno de los dos puntos de control para el inicio de síntesis de proteína en células eucarióticas. El eIF-2 consta de subunidades α, β y γ. El **eIF-2 α es fosforilado** (en la serina 51) por al menos **cuatro proteínas cinasa diferentes (HCR, PKR, PERK y GCN2)** que se activan cuando una célula está bajo estrés, y cuando el gasto de energía requerido para la síntesis de proteína sería perjudicial. Esas condiciones incluyen carencia acentuada de aminoácido y glucosa, infección por virus, presencia intracelular de cantidades grandes de proteínas plegadas de manera errónea, privación de suero, hiperosmolalidad y choque por calor. La PKR es en particular interesante a este respecto. Esta cinasa es activada por virus, y proporciona un mecanismo de defensa del huésped que disminuye la síntesis de proteína, incluso la síntesis de proteína viral, lo que inhibe la replicación de virus. El eIF-2α fosforilado se une de manera estrecha a la proteína reciclante de GTP-GDP eIF-2b, y la inactiva, lo que evita la formación del complejo de preinicio 43S y bloquea la síntesis de proteína.

Formación del complejo de inicio 48S

Las terminaciones 5′ de las moléculas de mRNA en células eucariontes tienen "cubierta" (capítulo 36). La cubierta ^{7me}G facilita la unión de mRNA al complejo de preinicio 43S. Un **complejo de proteína de unión a cubierta, eIF-4F (4F)**, que consta de **eIF-4E (4E)** y el **complejo eIF-4G (4G)-eIF4A (4A)**, se une a la cubierta por medio de la proteína 4E. A continuación, **eIF-4B (4B)** se une a, y reduce, la estructura secundaria compleja del extremo 5′ del mRNA por medio de su actividad helicasa dependiente de ATP. La asociación del mRNA con el complejo de preinicio 43S para formar el complejo de inicio 48S requiere hidrólisis de ATP. El eIF-3 es una proteína clave porque se une con alta afinidad al componente 4G de 4F, y enlaza este complejo a la subunidad ribosómica 40S. Después de la asociación del complejo de preinicio 43S con la cubierta de mRNA, y reducción ("fusión") de la estructura secundaria cerca del extremo 5′ del mRNA por medio de la acción de la helicasa 4B y ATP, el complejo transloca 5′ → 3′ y escanea el mRNA para buscar un codón de inicio idóneo. Por lo general éste es el AUG más 5′, pero el codón de inicio preciso está

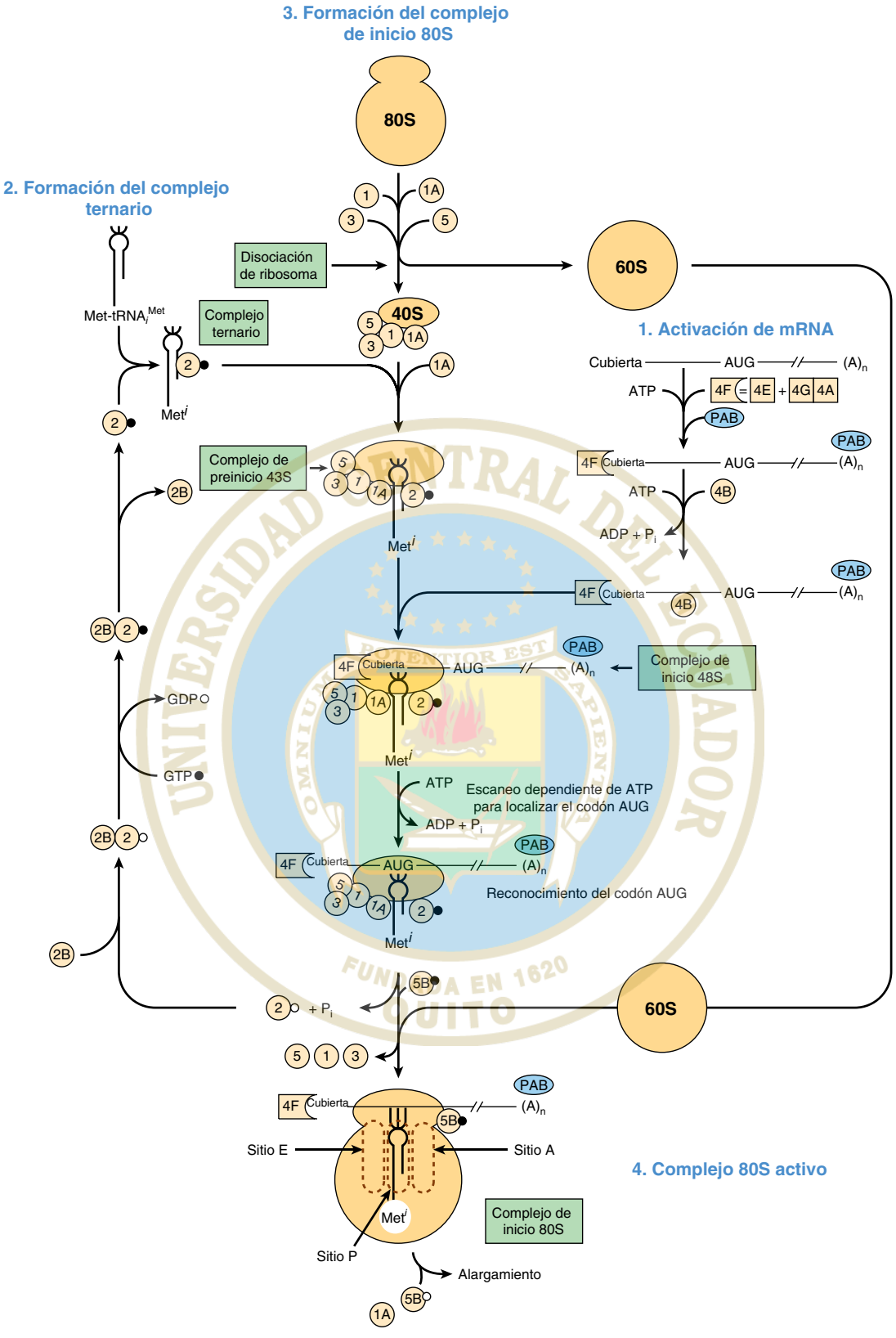
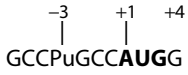


FIGURA 37-6 Diagrama de la fase de inicio de la síntesis de proteína en un mRNA eucarionte. Los mRNA eucariontes contienen una cubierta 5′ ^{7me}G (Cubierta) y terminación poli (A) 3′ ([A]$_n$). El complejo de preinicio de la traducción procede en varios pasos: 1) activación de mRNA (**derecha**); 2) formación del complejo ternario que consta de met-tRNA^i, factor de inicio eIF-2, y GTP (**izquierda**); 3) escaneo en el complejo 43S para localizar el codificador iniciador AUG, lo que forma el complejo de inicio 48S (**centro**), y 4) formación del complejo de inicio 80S activo (**abajo**, **centro**). (Véanse los detalles en el texto.) (GTP, •; GDP, °.) Los diversos factores de inicio aparecen en forma abreviada como círculos o cuadrados, por ejemplo, eIF-3, (③), eIF-4F, (4F), ([4F]). 4•F es un complejo que consta de 4E y 4A unidos a 4G (figura 37-7). La proteína de unión de poli A, que interactúa con el mRNA cola 3′-poli A, se abrevia PAB. El conjunto de factores de proteína y la subunidad ribosómica 40S comprenden el complejo de preinicio 43S. Cuando está unido a mRNA, esto forma el complejo de preinicio 48S.

determinado por las llamadas **secuencias de consenso Kozak** que rodean al codón de inicio **AUG**:



Se prefiere más la presencia de una purina (Pu) en las posiciones −3 y G en la posición +4.

Función de la cola poli(A) en el inicio

Experimentos bioquímicos y genéticos en levaduras han revelado que la cola 3′ poli(A) y la **proteína de unión poly A**, **PAB1**, se requieren para el inicio eficiente de la síntesis de proteína. Estudios adicionales mostraron que la cola poli(A) estimula el reclutamiento de la subunidad ribosómica 40S al mRNA por medio de una serie compleja de interacciones. La PAB (**figura 37-7**), unida a la cola poli(A), interactúa con eIF-4G, y la subunidad 4E de eIF-4F que está unido a la cubierta para formar una estructura circular que ayuda a dirigir la subunidad ribosómica 40S al extremo 5′ del mRNA y probablemente también estabiliza a los mRNA contra degradación exonucleolítica. Esto ayuda a explicar por qué las estructuras de cubierta y cola poli(A) tienen un efecto sinérgico sobre la síntesis de proteína. De hecho, interacciones proteína-proteína diferenciales entre represores de la traducción del mRNA generales y específicos, y el eIF-4 dan por resultado control de la traducción dependiente de m^7GCap (**figura 37-8**).

Formación del complejo de inicio 80S

La unión de la subunidad ribosómica 60S al complejo de inicio 48S comprende hidrólisis del GTP unido al eIF-2 por **eIF-5**. Esta reacción origina la liberación de los factores de inicio unidos al complejo de inicio 48S (estos factores a continuación se reciclan), y la asociación rápida de las subunidades 40S y 60S para formar el ribosoma 80S. En este punto, el met-tRNA^i está sobre el sitio P del ribosoma, listo para que comience el ciclo de alargamiento.

La regulación de eIF-4E controla el índice de inicio

El complejo 4F es en particular importante en el control del índice de traducción de proteína. Como se describió, 4F es un complejo que consta de 4E, que se une a la estructura de cubierta m^7G en el extremo 5′ del mRNA, y 4G, que sirve como una proteína de andamiaje. Además de unirse a 4E, 4G se une a eIF-3, que enlaza el complejo a la subunidad ribosómica 40S. También se une a 4A y 4B, el complejo de ATPasa-helicasa que ayuda a desenrollar el RNA (figura 37-8).

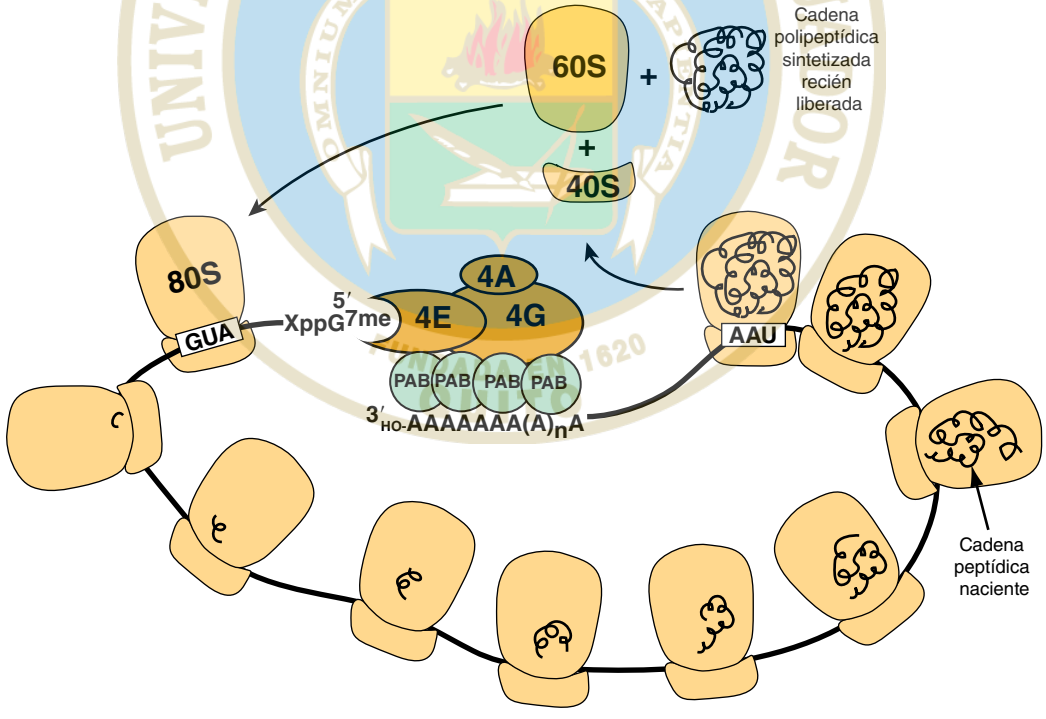


FIGURA 37-7 **Esquema que ilustra la circularización del mRNA por medio de interacciones entre una proteína y otra entre eIF4F unido a m^7G y proteína de unión a PoliA unida a cola poli A.** El eIF4F, compuesto de subunidades eIF4A, 4E y 4G se une con alta afinidad a la "cubierta" 5′-m7G mRNA (-XpppG^{me}) torrente arriba del codón de inicio de traducción (AUG). La subunidad eIF4G del complejo también se une con alta afinidad a la proteína de unión Poli A (PAB). Dado que la PAB está unida de manera estrecha a la cola 3′-poli A mRNA (OH-AAAAAAA(A)$_n$A), el resultado es circularización. Se muestran múltiples ribosomas 80S que están en el proceso de traducción del mRNA circularizado hacia proteína (líneas enroscadas de color negro), lo que forma un polisoma. En el momento de encontrar un codón de terminación (UAA), termina la traducción, lo que lleva a liberación y disociación del ribosoma 80S hacia subunidades 60S, 40S y proteína recién traducida. Las subunidades ribosómicas disociadas pueden reciclarse por otra ronda de traducción (figura 37-6).

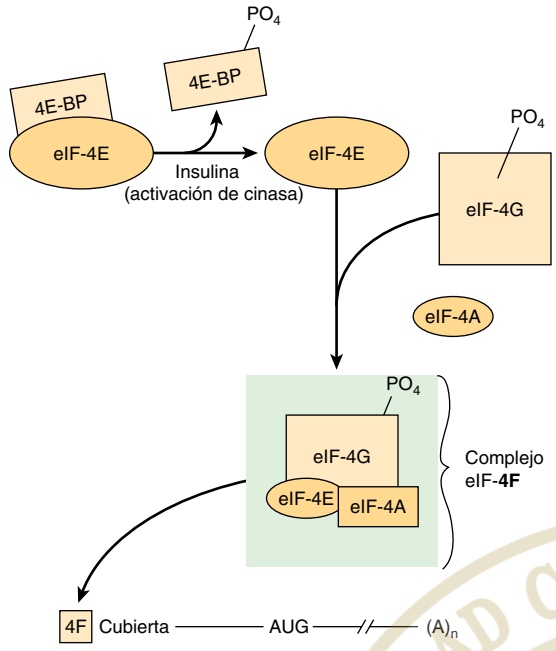


FIGURA 37-8 Activación de eIF-4E por la insulina, y formación de la cubierta que une al complejo eIF-4F. El complejo de cubierta 4F mRNA se describe como en las figuras 37-6 y 37-7. El complejo 4F consta de eIF-4E (4E), eIF-4A y eIF-4G. 4E es inactivo cuando es unido por una de una familia de proteínas de unión (4EBP). La insulina y los factores mitogénicos (p. ej., IGF-1, PDGF, interleucina-2 y angiotensina II) activan a las vías de PI3 cinasa/AKT cinasa, lo que activa a la mTOR cinasa, y da por resultado la fosforilación de 4E-BP (figura 42-8). El 4E-BP fosforilado se disocia de 4E, y a continuación este último es capaz de formar el complejo 4F y unirse a la cubierta del mRNA. Estos péptidos de crecimiento también inducen fosforilación del 4G mismo por las vías de mTOR y MAP cinasa. El 4F fosforilado se une con mucho mayor avidez a la cubierta que el 4F no fosforilado; esto estimula la formación y posterior traducción del complejo de inicio 48S.

4E se encarga del reconocimiento de la estructura de cubierta del mRNA, un paso limitante en la traducción. Este proceso se regula más por medio de fosforilación. La insulina y factores de crecimiento mitogénicos dan por resultado la fosforilación de 4E sobre Ser 209 (o Tre 210). 4E fosforilado se une a la cubierta con mucho más avidez que la forma no fosforilada, lo que aumenta el índice de inicio. Componentes de la vía de la MAP cinasa, las cinasas PI3K, mTOR, RAS y S6 (figura 42-8), parecen participar en estas reacciones de fosforilación.

La actividad de 4E está regulada en una segunda vía, y ésta también comprende fosforilación. Una serie de proteínas recién descubiertas se unen a 4E y lo desactivan; estas proteínas comprenden **4EBP1** (**BP1**, también conocida como PHAS-1) y las proteínas estrechamente relacionadas **4E-BP2** y **4E-BP3**. BP1 se une con alta afinidad a 4E. La asociación [4E]•[BP1] evita que 4E se una a 4G (para formar 4F). Dado que esta interacción es esencial para la unión de 4F a la subunidad ribosómica 40S, y para colocar de manera correcta esto sobre el mRNA cubierto, BP-1 inhibe con eficacia el inicio de la traducción.

La insulina y otros factores de crecimiento dan por resultado la fosforilación de BP-1 en siete sitios únicos. La fosforilación de BP-1 da por resultado su disociación de 4E, y no puede volver a unirse sino hasta que se desfosforilan sitios cruciales. Estos efectos sobre la activación de 4E explican en parte de qué modo la insulina causa un notorio aumento postranscripcional de la síntesis de proteína en el hígado, el tejido adiposo y el músculo.

El alargamiento también es un proceso de múltiples pasos, facilitado por factor accesorio

El alargamiento, es un proceso cíclico en el ribosoma, en el cual un aminoácido a la vez se añade a la cadena peptídica naciente (**figura 37-9**). La secuencia peptídica está determinada por el orden de los codones en el mRNA. El alargamiento comprende varios pasos catalizados por proteínas llamadas **factores de alargamiento** (**EF**). Estos pasos son: 1) unión de aminoacil-tRNA al sitio A, 2) formación de enlace peptídico, 3) translocación del ribosoma sobre el mRNA, y 4) expulsión del tRNA desacilado de los sitios P- y E-.

Unión de aminoacil-tRNA al sitio A

En el ribosoma 80S completo que se forma durante el proceso de inicio, tanto el **sitio A** (**sitio aminoacilo** o **aceptor**) como el E (sitio de salida del tRNA desacilado) están libres. La unión del aminoacil-tRNA apropiado en el sitio A requiere reconocimiento de codón apropiado. El **factor de alargamiento 1A (EF1A)** forma un complejo ternario con GTP y el aminoacil-tRNA que está entrando (figura 37-9). A continuación, este complejo permite que el aminoacil-tRNA correcto entre al sitio A con la liberación de EF1A•GDP y fosfato. La hidrólisis de GTP es catalizada por un sitio activo en el ribosoma; la hidrólisis induce un cambio conformacional en el ribosoma, lo que aumenta de manera concomitante la afinidad por el tRNA. Como se muestra en la figura 37-9,l EF1A-GDP se recicla entonces hacia EF1A-GTP, con la ayuda de otros factores proteínicos solubles y GTP.

Formación de enlace peptídico

El grupo α-amino del nuevo aminoacil-tRNA en el sitio aún lleva a cabo un ataque nucleofílico sobre el grupo carboxilo esterificado del **peptidil-tRNA** que ocupa el **sitio P** (sitio peptidilo o polipéptido). En el momento del inicio, este sitio está ocupado por el iniciador met-tRNA^{i}. Esta reacción es catalizada por una **peptidiltransferasa**, un componente del RNA 28S de la subunidad ribosómica 60S. Éste es otro ejemplo de actividad de ribozima, e indica una función directa importante (y previamente no sospechada) para el RNA en la síntesis de proteína (**cuadro 37-3**). Dado que el aminoácido en el aminoacil-tRNA ya está "activado", no se requiere una fuente de energía adicional para esta reacción. La reacción da por resultado la fijación de la cadena peptídica en crecimiento al tRNA en el sitio A.

Translocación

El tRNA ahora desacilado se fija mediante su anticodón al sitio P en un extremo y mediante la cola CCA abierta a un sitio de salida (*exit*) (E) en la subunidad ribosómica grande (figura 37-9, en medio). En este punto, el **factor de alargamiento 2 (EF2)** se une al peptidil-tRNA y lo desplaza del sitio A al sitio P. A su vez, el tRNA desacilado está en el sitio E, desde el cual abandona el ribosoma. El complejo EF2-GTP se hidroliza hacia EF2-GDP, lo que mueve con eficacia el mRNA hacia delante un codón, y deja el sitio A abierto para ocupación por otro complejo ternario de tRNA aminoácido-EF1AGTP y otro sitio de alargamiento.

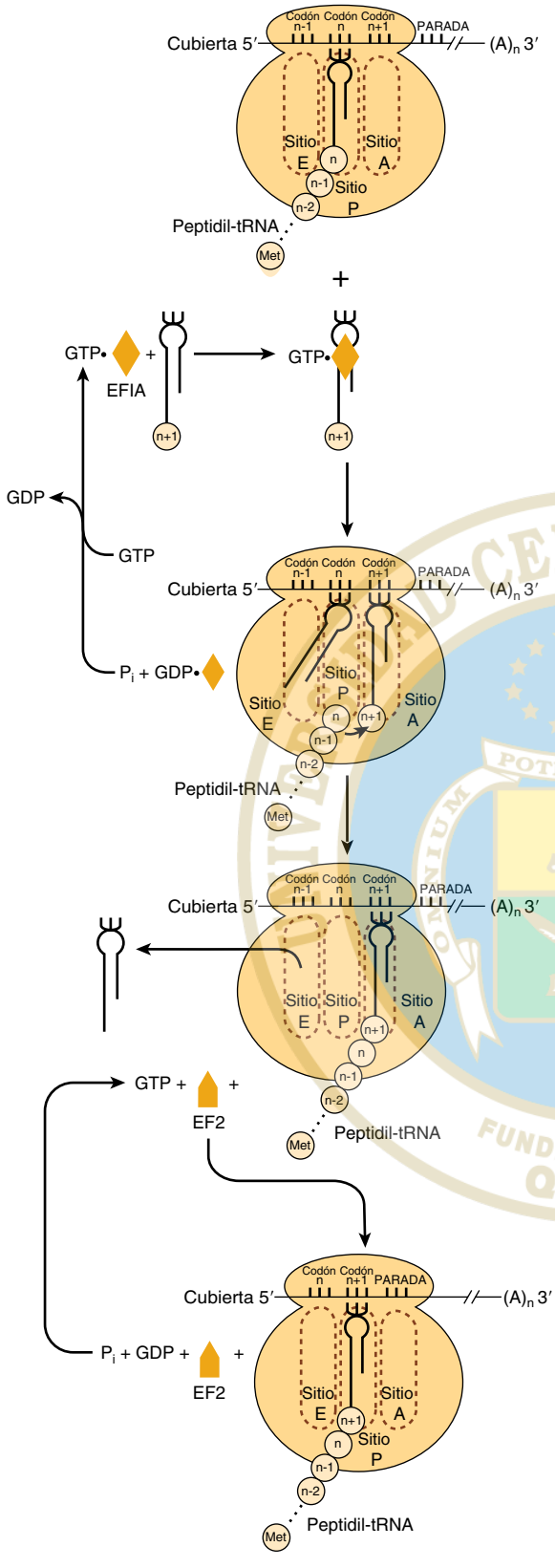


FIGURA 37-9 Representación esquemática del proceso de alargamiento de péptido de la síntesis de proteína. Los círculos pequeños etiquetados n – 1, n, n + 1, etc., representan los residuos aminoácido de la molécula de proteína recién formada, y codones correspondientes en el mRNA. EFIA y EF2 representan los factores de alargamiento 1 y 2, respectivamente. El peptidil-tRNA, aminoacil-tRNA y los sitios de salida (Exit) en el ribosoma están representados por el sitio P, el sitio A y el sitio E, respectivamente.

CUADRO 37-3 Evidencia de que el rRNA es peptidiltransferasa

- Los ribosomas pueden hacer enlaces peptídicos incluso cuando las proteínas se eliminan o desactivan
- Ciertas partes de la secuencia del rRNA están muy conservadas en todas las especies
- Estas regiones conservadas están en la superficie de la molécula de RNA
- El RNA puede ser catalítico en muchas otras reacciones químicas
- Las mutaciones que dan por resultado resistencia a antibiótico en el ámbito de la síntesis de proteína se encuentran más a menudo en el rRNA que en los componentes proteínicos del ribosoma
- La estructura cristalina en rayos X de subunidad grande unida a tRNA sugiere un mecanismo detallado

La carga de la molécula de tRNA con la porción aminoacilo requiere la hidrólisis de un ATP hacia un AMP, equivalente a la hidrólisis de dos ATP hacia dos ADP y fosfatos. La entrada del aminoacil-tRNA al sitio A da por resultado la hidrólisis de un GTP hacia GDP. La translocación del peptidil-tRNA recién formado en el sitio A hacia el sitio P por EF2 origina de manera similar hidrólisis de GTP hacia GDP y fosfato. De este modo, los requerimientos de energía para la formación de un enlace peptídico incluyen el equivalente de la hidrólisis de dos moléculas de ATP hacia ADP, y de dos moléculas de GTP hacia GDP, o la hidrólisis de cuatro enlaces de fosfato de alta energía. Un ribosoma eucariótico puede incorporar hasta seis aminoácidos por segundo; los ribosomas procarióticos incorporan hasta 18 por segundo. De este modo, el proceso de síntesis de péptido que requiere energía ocurre con gran rapidez y exactitud en tanto no se llega a un codón de terminación.

La terminación ocurre cuando se reconoce un codón de parada

En comparación con el inicio y el alargamiento, la terminación es un proceso relativamente simple (**figura 37-10**). Después de que múltiples ciclos de alargamiento culminan en polimerización de aminoácidos específicos hacia una molécula de proteína, aparece en el sitio A el codón de parada o de terminación del mRNA (UUA, UAG, UGA). En circunstancias normales, no hay tRNA con un anticodón capaz de reconocer esa señal de terminación. El **factor liberador RF1** reconoce que un codón de parada reside en el sitio A (figura 37-10). RF1 es unido por un complejo que consta del **factor de liberación RF3** con GTP unido; este complejo, con la peptidil transferasa, promueve la hidrólisis del enlace entre el péptido y el tRNA que ocupa el sitio P. De este modo, se añade una molécula de agua en lugar de un aminoácido. Esta hidrólisis libera la proteína y el tRNA del sitio P. En el momento de la hidrólisis y liberación, el ribosoma 80S se disocia hacia sus subunidades 40S y 60S, que entonces se reciclan (figura 37-7). Por ende, los factores de liberación son proteínas que hidrolizan el enlace peptidil-tRNA cuando un codón de parada ocupa el sitio A. A continuación, el mRNA se libera del ribosoma, que se disocia hacia las subunidades 40S y 60S que lo componen, y puede repetirse otro ciclo.

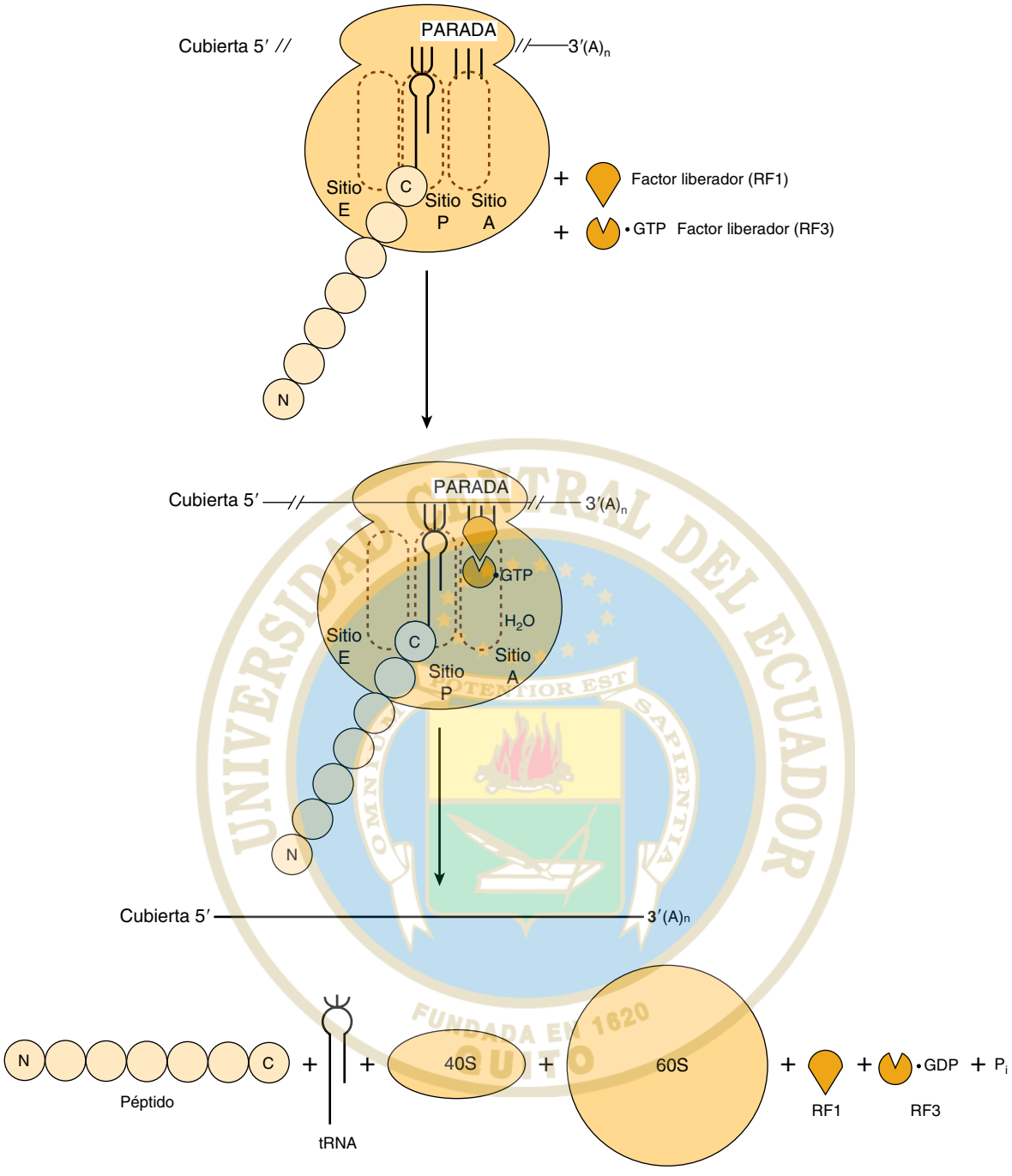


FIGURA 37-10 Representación esquemática del proceso de terminación de la síntesis de proteína. Los sitios peptidil-tRNA, aminoacil-tRNA y de salida (*exit*) están indicados como sitio P, sitio A y sitio E, respectivamente. El codón de terminación (de parada) está indicado por las tres barras verticales y parada. El factor liberador RF1 se une al codón de parada. El factor liberador RF3, con GTP unido, se une a RF1. La hidrólisis del complejo peptidil-tRNA se muestra mediante la entrada de H_2O. N y C indican los aminoácidos amino y carboxilo terminales de la cadena polipeptídica naciente, respectivamente, e ilustran la polaridad de la síntesis de proteína. La terminación da lugar a la liberación del mRNA, la proteína recién sintetizada, tRNA libre, subunidades 40S y 60S, así como RF1, RF3 unido a GDP, y Pi inorgánico (parte inferior derecha).

Los polisomas son montajes de ribosomas

Muchos ribosomas pueden traducir la misma molécula de mRNA de manera simultánea. Debido a su tamaño relativamente grande, las partículas de ribosoma no se pueden fijar a un mRNA con menos de 35 nucleótidos de separación. Múltiples ribosomas en la misma molécula de mRNA forman un **polirribosoma**, o "polisoma" (figura 37-7). En un sistema no restringido, el número de ribosomas fijos a un mRNA (y, así, el tamaño de los polirribosomas) tiene correlación positiva con la longitud de la molécula de mRNA.

Los polirribosomas que están sintetizando de manera activa proteínas pueden existir como partículas libres en el citoplasma

celular, o estar fijos a hojas de material citoplásmico membranoso denominadas **retículo endoplásmico**. El aspecto "rugoso" que se observa en la microscopia electrónica depende de la fijación de los ribosomas articulados al retículo endoplásmico. Las proteínas sintetizadas por los ribosomas fijos se sacan hacia el espacio de la cisterna entre las hojas del retículo endoplásmico rugoso, y se exportan desde ahí. El aparato de Golgi aglomera algunos de los productos proteínicos del retículo endoplásmico rugoso para exportación final (capítulo 46). Las partículas polirribosómicas libres en el citosol se encargan de la síntesis de proteínas requeridas para las funciones intracelulares.

Los mRNA que no se están traduciendo pueden formar partículas de ribonucleoproteína que se acumulan en organelos citoplásmicos llamados cuerpos P

Los mRNA, unidos por proteínas aglomeradoras específicas, y exportados desde el núcleo como **partículas de ribonucleoproteínas** (**RNP**), a veces no se asocian de inmediato con ribosomas para ser traducidos. En lugar de eso, mRNA específicos pueden asociarse con los constituyentes proteínicos que forman los **cuerpos P**, pequeños compartimientos densos que incorporan mRNA como mRNP (**figura 37-11**); estos organelos citoplásmicos se relacionan con gránulos que contienen mRNA pequeños similares que se encuentran en neuronas y ciertas células maternas. Los cuerpos P son sitios de represión de la traducción y de descomposición del mRNA. Se ha sugerido que más de 35 proteínas distintas residen de manera exclusiva o extensa dentro de los cuerpos P. Estas proteínas varían desde enzimas que descubren el mRNA, RNA helicasas y RNA exonucleasas (5′ a 3′ y 3′ a 5′), hasta componentes involucrados en la función del miRNA y en el control de calidad del mRNA. Sin embargo, la incorporación de una mRNP no es una "sentencia de muerte" inequívoca del mRNA. De hecho, aunque todavía no se entienden por completo los mecanismos, ciertos mRNA parecen almacenarse temporalmente en los cuerpos P y después recuperarse y utilizarse para la traducción de proteína. Esto sugiere que hay un equilibrio donde las funciones citoplásmicas del mRNA (traducción y degradación) son controladas por la interacción dinámica del mRNA con polisomas y cuerpos P.

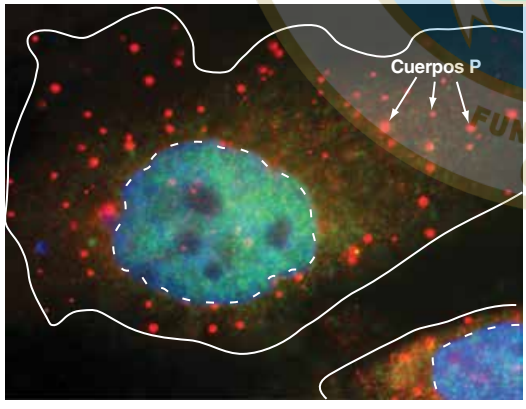


FIGURA 37-11 El cuerpo P es un organelo citoplásmico implicado en el metabolismo del mRNA. Se muestra una fotomicrografía de dos células de mamífero en las cuales un constituyente proteínico separado único del cuerpo P se ha visualizado usando el anticuerpo marcado con fluorescencia específico cognado. Los cuerpos P aparecen como círculos luminosos de tamaño variable en todo el citoplasma. Las membranas celulares plasmáticas están indicadas por una línea continua de color blanco, y los núcleos, mediante una línea discontinua. Los núcleos se contratiñeron usando un colorante fluorescente con diferentes espectros de excitación/emisión de fluorescencia desde el anticuerpo marcado usado para identificar cuerpos P; el colorante nuclear se intercala entre pares de base de DNA y luce como azul/verde. Modificado de http://www.mcb.arizona.edu/parker/WHAT/what.htm. (Usado con autorización del Dr. Roy Parker).

La maquinaria de la síntesis de proteína puede mostrar respuesta a amenazas ambientales

La **ferritina**, una proteína de unión a hierro, evita que el hierro ionizado (Fe^{2+}) alcance concentraciones tóxicas dentro de las células. El hierro elemental estimula la síntesis de ferritina al causar la liberación de una proteína citoplásmica que se une a una región específica en la región 5′ no traducida del mRNA de ferritina. La alteración de esta interacción entre proteína y mRNA activa al mRNA de ferritina, y da por resultado su traducción; este mecanismo proporciona control rápido de la síntesis de una proteína que secuestra Fe^{2+}, una molécula en potencia tóxica (figura 52-8). De modo similar, el estrés ambiental y la privación de nutrientes inhiben los papeles positivos de mTOR (figura 37-8; figura 42-8) sobre la promoción de la activación de la formación de complejo eIF4F y 48S.

Muchos virus se apropian de la maquinaria de síntesis de proteína de la célula huésped

La maquinaria de síntesis de proteína también puede modificarse de maneras perjudiciales. Los virus se replican usando los procesos de la célula huésped, incluso los involucrados en la síntesis de proteína. Algunos mRNA virales se traducen con mucho mayor eficiencia que los de la célula huésped (p. ej., virus de la encefalomiocarditis). Otros, como los reovirus y el virus de la estomatitis vesicular, se replican con eficiencia y así, sus abundantes mRNA tienen una ventaja competitiva sobre los mRNA de la célula huésped para factores de traducción limitados. Otros virus inhiben la síntesis de proteína por la célula huésped al evitar la asociación de mRNA con el ribosoma 40S.

El poliovirus y otros picornavirus adquieren una ventaja selectiva al alterar la función del complejo 4F. Los mRNA de estos virus carecen de una estructura de cubierta para dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S (véase antes). En lugar de eso, dicha subunidad entra en contacto con un **sitio de entrada ribosómico interno (IRES)** en una reacción que requiere 4G pero no 4E. El virus adquiere una ventaja selectiva al tener una proteasa que ataca a G4 y elimina el sitio de unión a 4E amino terminal. Ahora, es imposible que se forme el complejo 4E-4G (4F), de modo que la subunidad ribosómica 40S no puede dirigirse hacia huéspedes mRNA cubiertos, con lo que se suprime la síntesis de la célula huésped. El fragmento 4G puede dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S a mRNA que contienen IRES, de modo que la traducción del mRNA viral es muy eficiente (**figura 37-12**). Estos virus también promueven la desfosforilación de BP1 (PHAS-1), lo que disminuye la traducción dependiente de cubierta (4E) (figura 37-8).

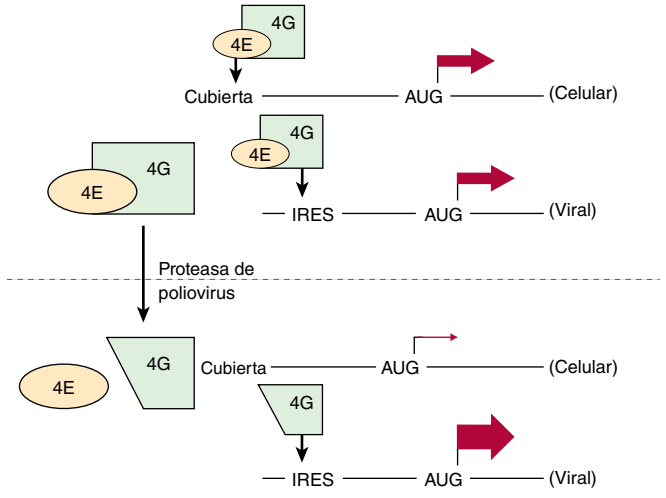


FIGURA 37-12 Los picornavirus alteran el complejo 4F. El complejo 4E-4G (4F) dirige la subunidad ribosómica 40S hacia el mRNA cubierto típico (véase el texto). Sin embargo, 4G sólo es suficiente para dirigir la subunidad 40S hacia el sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de ciertos mRNA virales. Para obtener ventaja selectiva, algunos virus (p. ej., poliovirus) expresan una proteasa que divide el sitio de unión a 4E desde el extremo aminoterminal de 4G. Este 4G truncado puede dirigir la subunidad ribosómica 40S hacia mRNA que tienen un IRES, pero no hacia los que tienen una cubierta (p. ej., células huésped mRNA). Las anchuras de las flechas indican el índice de inicio de la traducción desde el codón AUG en cada ejemplo. Otros virus utilizan procesos separados para efectuar el inicio selectivo de traducción en sus mRNA virales cognados por medio de elementos de IRES.

EL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL AFECTA LA ACTIVIDAD DE MUCHAS PROTEÍNAS

Algunos virus de animales, entre los que destacan el HIV, el poliovirus y el virus de la hepatitis A, sintetizan proteínas policistrónicas largas a partir de una molécula de mRNA larga. Las moléculas de proteína traducidas a partir de estos mRNA largos después se dividen en sitios específicos para proporcionar las varias proteínas específicas requeridas para la función viral. En células de animales, muchas proteínas celulares se sintetizan a partir de la plantilla de mRNA como una molécula precursora, que después debe modificarse para lograr la proteína activa. El prototipo es la insulina, molécula pequeña que tiene dos cadenas polipeptídicas con puentes disulfuro intercadena e intracadena. La molécula se sintetiza como un precursor de cadena única, o **prohormona**, que se pliega para permitir que se formen los puentes disulfuro. A continuación una proteasa específica recorta el segmento que conecta las dos cadenas, lo que forma la molécula de insulina funcional (figura 41-12).

Muchos otros péptidos se sintetizan como proproteínas que requieren modificaciones antes de alcanzar actividad biológica. Muchas de las modificaciones postraduccionales involucran la eliminación de residuos aminoácido amino terminal por aminopeptidasas específicas (figura 41-14). En contraste, el colágeno, una proteína abundante en los espacios extracelulares de eucariotas superiores, se sintetiza como procolágeno. Tres moléculas polipeptídicas de procolágeno, a menudo con secuencia no idéntica, se alinean a sí mismas de una manera particular que depende de la existencia de péptidos amino terminales específicos (figura 5-11). A continuación enzimas específicas llevan a cabo hidroxilaciones y oxidaciones de residuos aminoácido específicos dentro de las moléculas de procolágeno para proporcionar enlaces covalentes para mayor estabilidad. Los péptidos amino terminal se eliminan de la molécula para formar el producto final, una molécula de colágeno fuerte e insoluble. Ocurren muchas otras modificaciones postraduccionales de proteínas. Por ejemplo, la modificación covalente por medio de acetilación, fosforilación, metilación, ubiquitilación y glucosilación, es frecuente (capítulo 5; cuadro 35-1).

MUCHOS ANTIBIÓTICOS TRABAJAN AL INHIBIR DE MANERA SELECTIVA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA EN BACTERIAS

Los ribosomas en bacterias y en las mitocondrias de células eucarióticas superiores difieren del ribosoma de mamífero descrito en el capítulo 34. El ribosoma bacteriano es de menor tamaño (70S en lugar de 80S), y tiene una dotación diferente, un poco más sencilla, de RNA y moléculas de proteína. Esta diferencia puede explotarse para propósitos clínicos, porque muchos antibióticos eficaces interactúan de manera específica con las proteínas y los RNA de ribosomas procarióticos y, así, sólo inhiben la síntesis de proteína bacteriana. Esto da por resultado paro del crecimiento o muerte de la bacteria. Los miembros más útiles de esta clase de **antibióticos** (p. ej., **tetraciclinas**, **lincomicina**, **eritromicina** y **cloranfenicol**) no interactúan con componentes de ribosomas eucarióticos y, así, no son tóxicos para eucariotas. La tetraciclina evita la unión de aminoacil-tRNA al sitio A del ribosoma bacteriano. El cloranfenicol y la clase macrólido de antibióticos funcionan al unirse a rRNA 23S, lo cual es interesante en vista de la participación recién apreciada del rRNA en la formación de enlace peptídico por medio de su actividad de peptidil transferasa. Es necesario mencionar que la estrecha similitud entre ribosomas procarióticos y mitocondriales puede llevar a complicaciones en el uso de algunos antibióticos.

Otros antibióticos inhiben la síntesis de proteína en todos los ribosomas (**puromicina**) o sólo en los de células eucarióticas (cicloheximida). La puromicina (**figura 37-13**) es un análogo estructural del tirosinil-tRNA. La puromicina se incorpora por medio del sitio A en el ribosoma hacia la posición carboxilo terminal de un péptido, pero causa la liberación prematura del polipéptido. La puromicina, como un análogo del tirosinil-tRNA, inhibe con eficacia la síntesis de proteína tanto en procariotas como en eucariotas. La cicloheximida inhibe la peptidil transferasa en la subunidad ribosómica 60S en eucariotas, probablemente al unirse a un componente de rRNA.

La **toxina diftérica**, una exotoxina de *Corynebacterium diphtheriae* infectada por un fago lisogénico específico, cataliza la ADP-ribosilación de EF-2 en el aminoácido diftamida único en células de mamífero. Esta modificación desactiva a EF-2 y, así, inhibe la síntesis de proteína de mamífero. Muchos animales (p. ej., los ratones) son resistentes a la toxina diftérica; esa resistencia se debe a incapacidad de dicha toxina para cruzar la membrana

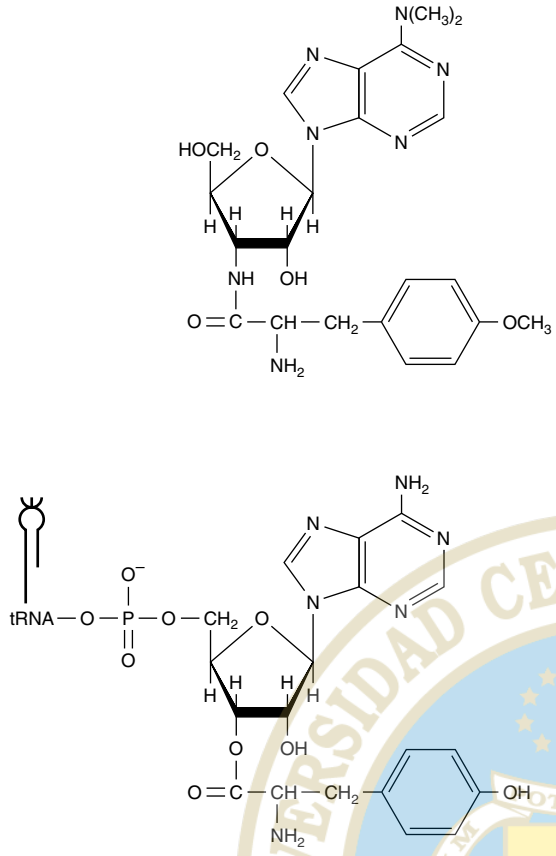


FIGURA 37-13 **Las estructuras comparativas del antibiótico puromicina (arriba) y la porción 3′ terminal del tirosinil-tRNA (abajo).**

celular, más que a insensibilidad del EF-2 de ratón a la ADP-ribosilación por NAD catalizada por la toxina diftérica.

La **ricina**, una molécula en extremo tóxica que se aísla a partir del ricino, desactiva el RNA ribosómico 28S eucariótico al proporcionar la división N-glucolítica o eliminación de una adenina única.

Muchos de estos compuestos (la puromicina y cicloheximida en particular) carecen de utilidad clínica, pero han tenido importancia en la dilucidación de la participación de la síntesis de proteína en la regulación de procesos metabólicos, en particular inducción de enzima por hormonas.

RESUMEN

- El flujo de información genética sigue la secuencia DNA → RNA → proteína.
- La información genética en un gen se transcribe hacia una molécula de RNA, de modo que la secuencia de esta última es complementaria a la que hay en el DNA.
- El RNA ribosómico (rRNA), RNA de transferencia (tRNA) y RNA mensajero (mRNA) participan de manera directa en la síntesis de proteína.
- Los miRNA regulan la función del mRNA en el ámbito de la traducción, la estabilidad, o ambas.
- La información en el mRNA es una disposición de codones en tándem, cada uno de los cuales tiene tres nucleótidos de largo.
- El mRNA se lee de manera continua desde un codón de inicio (AUG) hasta un codón de terminación (UAA, UAG, UGA).
- El cuadro de lectura abierto, u ORF, del mRNA es la serie de codones, cada uno de los cuales especifica un cierto aminoácido, que determina la secuencia de aminoácidos precisa de la proteína.
- Las síntesis de proteína, al igual que la síntesis de DNA y RNA, sigue la polaridad 5′ a 3′ del mRNA, y puede dividirse en tres procesos: inicio, alargamiento y terminación.
- Las proteínas mutantes surgen cuando sustituciones de base única dan por resultado codones que especifican un aminoácido diferente en una posición dada, cuando un codón de parada da por resultado una proteína truncada, o cuando adiciones o deleciones de base alteran el cuadro de lectura, de modo que se leen codones diferentes.
- Diversos compuestos, entre ellos varios antibióticos, inhiben la síntesis de proteína al afectar uno o más de los pasos comprendidos en la síntesis de la misma.

REFERENCIAS

Crick FH, Barnett L, Brenner S, *et al*: General nature of the genetic code for proteins. Nature 1961;192:1227-1232.

Decker CJ, Parker R: P-bodies and stress granules: possible roles in the control of translation and mRNA degradation. Cold Spring Harb Perspect Biol 2012; 4:a012286.doi: 10.1101/cshperspect.a012286.

Hinnebusch AG: Molecular mechanism of scanning and start codon selection in eukaryotes. Microbiol Mol Biol Rev 2011;75:434-467.

Jenner L, Melnikov S, Garreau de Loubresse N, *et al*: Crystal structure of the 80S yeast ribosome. Curr Opin Struct Biol 2012; 22:759-767.

Kimball SR, Jefferson, LS: Control of translation initiation through integration of signals generated by hormones, nutrients, and exercise. J Biol Chem 2009;285:29027-29032.

Kozak M: Structural features in eukaryotic mRNAs that modulate the initiation of translation. J Biol Chem 1991;266:1986-1970.

Liu CC, Schultz PG: Adding new chemistries to the genetic code. Annu Rev Biochem 2010;79:413-444.

Maquat LE, Tarn WY, Isken O: The pioneer round of translation: features and functions. Cell 2010;142:368-374.

Mauger DM, Siegfried NA, Weeks KM: The genetic code as expressed through relationships between mRNA structure and protein function. FEBS Lett 2013 587:1180-1188.

Moore PB, Steitz TA: The roles of RNA in the synthesis of protein. Cold Spring Harb Perspect Biol 2011;3:a003780. doi: 10.1101/cshperspect.a003780.

Silvera D, Formenti SC, Schneider RJ: Translational control in cancer. Nat Rev Cancer 2010;10:254-266.

Sonenberg N, Hinnebusch AG: Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. Cell 2010;136:731-745.

Spriggs KA, Bushell M, Willis AE: Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. Mol Cell 2010;40:228-237.

Thompson SR: Tricks an IRES uses to enslave ribosomes. Trends Microbiol 2012;20:558-566.

Wang Q, Parrish AR, Wang L: Expanding the genetic code for biological studies. Chem Biol 2009;16:323-336.

Weatherall DJ: Thalassaemia: the long road from bedside to genome. Nat Rev Genet 2004;5:625-631.

Wilson DN: Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. Nat Rev Microbiol 2013;12:35-48.

CAPÍTULO 38

Regulación de la expresión de gen

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar que los muchos pasos involucrados en los procesos vectoriales de la expresión de gen, que varían desde modulación dirigida del número de copias del gen, reordenamiento de gen, transcripción, a procesamiento de mRNA y transporte del mismo desde el núcleo, traducción, hasta la modificación y degradación postraduccionales de proteína, están sujetos a control regulador, tanto positivo como negativo. Los cambios de cualquiera de estos procesos, o de varios, pueden aumentar o disminuir la cantidad del producto de gen cognado, o la actividad del mismo, o ambas.
- Apreciar que los factores de transcripción de unión a DNA, proteínas que se unen a secuencias de DNA específicas y a menudo están ubicadas cerca de elementos promotores transcripcionales, pueden activar la transcripción de gen o reprimirla.
- Reconocer que los factores de transcripción de unión a DNA a menudo son proteínas modulares que están compuestas de dominios separados desde los puntos de vista estructural y funcional, que pueden controlar de manera directa o indirecta la transcripción de gen que codifica para mRNA, sea por medio de contactos con RNA polimerasa y sus cofactores, o por medio de interacciones con correguladores que modulan la estructura de nucleosoma mediante modificaciones, o desplazamiento, o ambos, covalentes.
- Entender que los eventos reguladores dirigidos por nucleosoma típicamente aumentan o disminuyen la accesibilidad del DNA subyacente como secuencias aumentadoras o promotoras, aunque la modificación de nucleosoma también puede crear nuevos sitios de unión para otros correguladores.
- Entender que los procesos de transcripción, procesamiento de RNA y exportación nuclear de RNA están acoplados.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FUNDADA EN 1620
QUITO

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos alteran la expresión de genes en respuesta indicios o programas vinculados con el desarrollo genéticos, exposiciones ambientales, o enfermedad, al modular la cantidad de expresión de gen, y/o los patrones espaciales o temporales de la misma. Los mecanismos que controlan dicha expresión se han estudiado con detalle y a menudo comprenden modulación de la transcripción de gen. El control de la transcripción finalmente depende de cambios del modo de interacción de moléculas reguladoras específicas, por lo general proteínas, con diversas regiones de DNA en el gen controlado; esas interacciones pueden tener un efecto positivo o negativo sobre la transcripción. El control de la transcripción puede dar lugar a expresión de gen específica para tejido, y la regulación de gen está influida por hormonas, metales pesados y sustancias químicas. Además de controles en el ámbito de transcripción, la expresión de gen también puede ser modulada mediante ampliación de gen, reordenamiento de gen, modificaciones postranscripcionales, estabilización de RNA, control traduccional, modificación de proteína y estabilización de proteína. Muchos de los mecanismos que controlan la expresión génica se usan para responder a indicios vinculados con el desarrollo, factores de crecimiento, hormonas, agentes ambientales y fármacos terapéuticos. La disregulación de la expresión génica puede llevar a enfermedad en seres humanos. De este modo, un entendimiento molecular de estos procesos llevará a la creación de agentes que alteren mecanismos fisiopatológicos o inhiban la función o suspendan el crecimiento de organismos patogénicos.

LA EXPRESIÓN REGULADA DE GENES SE REQUIERE PARA EL DESARROLLO, LA DIFERENCIACIÓN Y LA ADAPTACIÓN

La información genética presente en cada célula somática normal de un organismo metazoo es prácticamente idéntica. Las excepciones programadas, genéticamente reproducibles, se encuentran en las pocas células que han amplificado genes o los han reordenado para desempeñar funciones celulares especializadas. Por supuesto, en diversos estados morbosos, la integridad de los cromosomas está alterada (esto es, cáncer; figura 56-11) a veces incluso en el ámbito de cromosoma entero (p. ej., trisomía 21, que causa síndrome de Down). La expresión de la información genética debe regularse durante la ontogenia y la diferenciación del organismo y sus componentes celulares. Además, para que el organismo se adapte a su ambiente y conserve energía y nutrientes, la expresión de la información genética debe ser influida por señales extrínsecas y sólo mostrar respuesta cuando es necesario. A medida que los organismos han evolucionado, también han aparecido mecanismos reguladores más complejos que proporcionan al organismo y sus células la capacidad de respuesta necesaria para sobrevivir en un ambiente complejo. Las células de mamífero poseen alrededor de 1 000 veces más información genética que la bacteria *Escherichia coli*. Gran parte de esta información genética adicional probablemente está involucrada en la regulación de la expresión de gen durante la diferenciación de tejidos y procesos biológicos en el organismo multicelular, y en el aseguramiento de que el organismo pueda responder a desafíos ambientales complejos.

En términos simples, sólo hay dos tipos de regulación de gen: **positiva** y **negativa** (**cuadro 38-1**). Cuando un elemento regulador específico aumenta de manera cuantitativa la expresión de la información genética, se dice que la regulación es positiva; cuando la presencia de un elemento regulador específico disminuye la expresión de la información genética, se considera que la regulación es negativa. El elemento o la molécula que media la regulación negativa se llama regulador negativo, **silenciador** o **represor**; y el que media regulación positiva es un **regulador positivo** o **activador**; sin embargo, un **doble negativo** tiene el efecto de actuar como un positivo. Así, un efector que inhibe la función de un regulador negativo parecerá desencadenar una regulación positiva. Muchos sistemas regulados que parecen ser inducidos, en realidad son **desreprimidos** en el ámbito molecular. (Estos términos se explican en el capítulo 9.)

CUADRO 38-1 Efectos de la regulación positiva y negativa sobre la expresión de gen

	Índice de expresión de gen	
	Regulación negativa	**Regulación positiva**
Regulador presente	Disminuida	Aumentada
Regulador ausente	Aumentada	Disminuida

LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS MUESTRAN TRES TIPOS DE RESPUESTAS TEMPORALES A UNA SEÑAL REGULADORA

La **figura 38-1** describe la extensión o cantidad de expresión de gen en tres tipos de respuesta temporal a una señal inductora. Una **respuesta tipo A** se caracteriza por expresión aumentada de gen, que depende de la presencia continua de la señal inductora. Cuando dicha señal se elimina, la expresión de gen disminuye hasta sus cifras basales, pero aumenta repetidas veces en respuesta a la reaparición de la señal específica. Este tipo de respuesta por lo general se observa en procariotas tras cambios repentinos de la concentración intracelular de un nutriente. También se ve en muchos organismos superiores después de exposición a inductores, como hormonas, nutrientes o factores de crecimiento (capítulo 42).

Una **respuesta tipo B** muestra expresión aumentada de gen que es transitoria incluso en presencia continua de la señal regula-

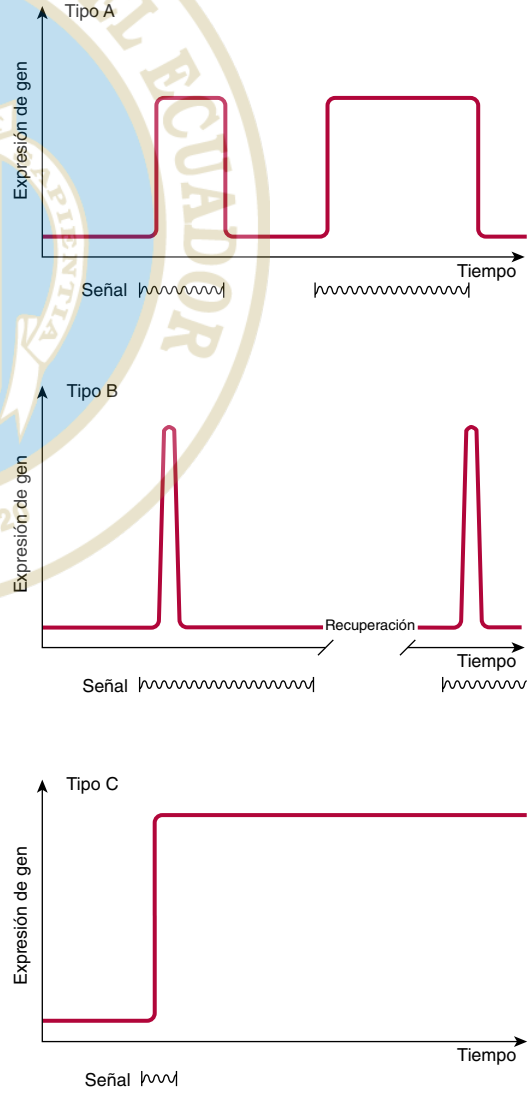


FIGURA 38-1 Representaciones esquemáticas de las respuestas de la extensión de la expresión de un gen a señales reguladoras específicas (como una hormona en función del tiempo).

dora. Después de que esta última señal ha terminado, y se ha permitido a la célula que se recupere, quizá se observe una segunda respuesta transitoria a una señal reguladora subsiguiente. Este fenómeno de recuperación respuesta-desensibilización caracteriza a la acción de muchos agentes farmacológicos, pero también es una característica de diversos procesos naturales. Este tipo de respuesta por lo general ocurre durante el desarrollo de un organismo, cuando sólo se requiere la aparición transitoria de un producto de gen específico aunque la señal persista.

El modelo de **respuesta tipo C** muestra una expresión de gen aumentada en respuesta a la señal reguladora que persiste por tiempo indefinido incluso después de la terminación de la señal. La señal actúa como un desencadenante en este modelo. Una vez que la expresión del gen se inicia en la célula, no puede terminarse incluso en las células hijas; por ende, es una alteración irreversible y hereditaria. Este tipo de respuesta típicamente ocurre durante el desarrollo de la función diferenciada de un tejido u órgano.

Organismos unicelulares y multicelulares sencillos sirven como modelos valiosos para el estudio de la expresión de gen en células de mamífero

El análisis de la regulación de la expresión génica en células procariontes ayudó a establecer el principio de que la información fluye desde el gen hacia un RNA mensajero, y hacia una molécula de proteína específica. Estos estudios fueron auxiliados por los análisis genéticos avanzados que pudieron efectuarse en organismos procariontes y en organismos eucariontes inferiores, como la levadura de panadero, *Saccharomyces cerevisiae*, y la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, entre otros. Durante los últimos años, los principios establecidos en estos estudios, junto con diversas técnicas de biología molecular, han llevado a notorio progreso en el análisis de la regulación de gen en organismos eucarióticos superiores, incluso mamíferos. En este capítulo, la exposición inicial se centra en sistemas procarióticos. No se describen aquí los impresionantes estudios genéticos, pero sí se ofrecen comentarios sobre las características fisiológicas de la expresión de gen. Sin embargo, casi todas las conclusiones acerca de estas características fisiológicas se han derivado de estudios genéticos y confirmado mediante experimentos de genética molecular y bioquímicos.

Algunas características de la expresión de gen procariótico son singulares

Antes de que puedan explicarse las características fisiológicas de la expresión de gen, es necesario definir algunos términos genéticos y reguladores especializados para sistemas procarióticos. En procariotas, los genes que participan en una vía metabólica a menudo están presentes en una disposición lineal llamada un **operón**, por ejemplo, el operón *lac*. Un operón puede estar regulado por un promotor o región reguladora únicos. El **cistrón** es la unidad de menor tamaño de expresión genética. Un mRNA único que codifica para más de una proteína traducida por separado se denomina un **mRNA policistrónico**. Por ejemplo, el mRNA operón *lac* policistrónico se traduce hacia tres proteínas separadas (véase más adelante). Los operones y los mRNA policistrónicos son comunes en bacterias, no así en eucariotas.

Un **gen inducible** es aquel cuya expresión aumenta en respuesta a un **inductor** o **activador**, una señal reguladora positiva específica. En general, los genes inducibles tienen índices de transcripción basales relativamente bajos. En contraste, los genes que tienen índices de transcripción basales altos a menudo quedan sujetos a regulación descendente por represores.

La expresión de algunos genes es **constitutiva**, lo que significa que se expresan a un índice razonablemente constante y no se sabe que estén sujetos a regulación. A menudo reciben el nombre de **genes "de administración de la casa".** Como resultado de mutación, algunos productos de gen inducibles se expresan de manera constitutiva. Una mutación que da por resultado una expresión constitutiva de lo que anteriormente era un gen regulado se denomina una **mutación constitutiva**.

El análisis del metabolismo de la lactosa en *E. coli* llevó a la hipótesis del operón

En 1961, Jacob y Monod describieron su **modelo de operón** en un artículo clásico. Su hipótesis se basó en gran parte en observaciones sobre la regulación del metabolismo de la lactosa en la bacteria intestinal *E. coli*. Los mecanismos moleculares de los cuales depende la regulación de los genes comprendidos en el metabolismo de la lactosa ahora figuran entre los mejor entendidos en cualquier organismo. La β-galactosidasa hidroliza a la β-galactósido lactosa hacia lactosa y glucosa. El gen estructural que codifica para β-galactosidasa *(lacZ)* está agrupado con los genes que se encargan de la permeación de la lactosa hacia la célula *(lacY)* y para tiogalactósido transacetilasa *(lacA)*. Los genes estructurales para estas tres enzimas, junto con el promotor *lac* y el operador *lac* (una región reguladora), están físicamente asociados para constituir el **operón *lac*** (**figura 38-2**). Este ordenamiento genético de los genes estructurales y sus genes reguladores permite la **expresión coordinada** de las tres enzimas que se relacionan con el metabolismo de la lactosa. Cada uno de estos genes enlazados se transcribe hacia una molécula de mRNA policistrónico grande que contiene múltiples codones de inicio (AUG) y de parada (UAA) de la traducción independientes para cada uno de estos tres cistrones. Así, cada proteína se traduce por separado y no se procesan a partir de una proteína precursora grande única.

Ahora es convencional considerar que un gen incluye secuencias reguladoras, así como la región que codifica para la transcrip-

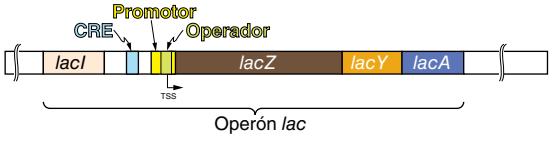


FIGURA 38-2 Las relaciones posicionales de los elementos codificante y regulador de proteína del operón *lac*. *lacZ* codifica para β-galactosidasa, *lacY* codifica para una permeasa, y *lacA* codifica para una tiogalactósido transacetilasa. *lacI* codifica para la proteína represora del operón *lac*. También se muestra el punto inicial de transcripción (TSS) para la transcripción del operón *lac*. Note que el sitio de unión para la proteína lacI (esto es, represor de lac) (el operador lac (Operador) se superpone con el promotor *lac*). Inmediatamente torrente arriba del promotor del operón lac está el sitio de unión (CRE) para la proteína de unión a cAMP, CAP, el regulador positivo de la transcripción del operón *lac*. Véanse más detalles en la figura 38-3.

ción primaria. Aunque hay muchas excepciones históricas, el nombre de un gen por lo general se escribe en letras cursivas minúsculas, y la proteína codificada, cuando se abrevia, se escribe con letra tipo romano con la primera letra en mayúsculas; por ejemplo, el gen *lacI* codifica para la proteína represora LacI. Cuando *E. coli* es presentada con lactosa o con algunos análogos de lactosa específicos en condiciones no represoras apropiadas (p. ej., concentraciones altas de lactosa, medio sin glucosa o con muy poca glucosa; véase más adelante), la expresión de las actividades de la β-galactosidasa, galactósido permeasa, y tiogalactósido transacetilasa aumenta 100 a 1 000 veces; se trata de una respuesta tipo A (figura 38-1). La cinética de la inducción puede ser bastante rápida; los mRNA específicos para *lac* están por completo inducidos en el transcurso de 5 a 6 minutos después de la adición de lactosa a un cultivo; la concentración de proteína β-galactosidasa es máxima en el transcurso de 10 minutos. En condiciones por completo inducidas, puede haber hasta 5 000 moléculas de β-galactosidasa por cada célula, una cantidad unas 1 000 veces mayor que la concentración basal, no inducida. En el momento de la eliminación de la señal, esto es, el inductor, la síntesis de estas tres enzimas declina.

Cuando *E. coli* queda expuesta tanto a lactosa como a glucosa como fuentes de carbono, los organismos metabolizan primero la glucosa y después dejan de crecer temporalmente hasta que los genes del operón *lac* quedan inducidos para proporcionar la capacidad de metabolizar lactosa como una fuente de energía utilizable. Aunque la lactosa está presente desde el comienzo de la fase de crecimiento bacteriano, la célula no induce las enzimas necesarias para el catabolismo de la lactosa sino hasta que la glucosa se ha agotado. Primero se creyó que este fenómeno era atribuible a la represión del operón *lac* por algún catabolito de la glucosa; por ende, se denominó represión por catabolito. Ahora se sabe que la represión por catabolito en realidad está mediada por **una proteína activadora de gen que codifica para catabolito (CAP)** de manera conjunta con **cAMP** (figura 17-5). Esta proteína también se denomina la proteína reguladora de cAMP (CRP). La expresión de muchos sistemas enzimáticos inducibles u operones en *E. coli* y otros procariotas es sensible a la represión por catabolito, como se considera más adelante.

Las características fisiológicas de la inducción del operón *lac* se entienden bien en el ámbito molecular (**figura 38-3**). La expresión del gen *lacI* normal del operón *lac* es constitutiva; se expresa a un índice constante, y da por resultado la formación de las subunidades del **represor *lac***. Cuatro subunidades idénticas con masa molecular relativa (peso molecular) de 38 000 se montan para formar una molécula represora Lac tetramérica. La molécula de proteína represora LacI, el producto de *lacI*, tiene afinidad alta (constante de disociación, K_d de alrededor de 10^{-13} mol/L) para el **locus operador**, una región de DNA bicatenario con una simetría rotacional de dos pliegues y un palíndromo invertido (indicado por flechas alrededor del eje punteado) en una región que tiene 21 pares de bases de largo, como se muestra a continuación:

```
          :
      ------>
5′ – AATTGTGAGC G GATAACAATT
3′ – TTA ACACTCG C CTATTGTTAA
          :
          <------
```

En cualquier momento, sólo 2 de las 4 subunidades del represor parecen unirse al operador, y dentro de la región de 21 pares de bases casi cada base de cada par de bases participa en el reconocimiento de LacI y la unión al mismo. Casi toda la unión ocurre en el **surco mayor** sin interrumpir la naturaleza de doble hélice, con pares de base, del DNA operador. El ***locus* operador** está entre el **sitio promotor**, en el cual la RNA polimerasa dependiente de DNA se fija para comenzar la transcripción, y el sitio de inicio de la transcripción del **gen *lacZ***, el gen estructural que codifica para la β-galactosidasa (figura 38-2). Cuando está fija al *locus* operador, la molécula represora LacI evita la transcripción de los genes estructurales distales, *lacZ*, *lacY* y *lacA* al interferir con la unión de RNA polimerasa al promotor; la RNA polimerasa y el represor LacI no pueden unirse con eficacia al operón *lac* al mismo tiempo. De este modo, la molécula represora LacI es un **regulador negativo**; en su presencia (y en ausencia del inductor; véase más adelante), la expresión de los genes *lacZ, lacY* y *lacA* es muy, muy baja. Normalmente hay 20 a 40 moléculas tetrámero represoras en la célula, una concentración (20-40 10^{-9} mol/L) de tetrámero suficiente para que en cualquier momento dado hacer que haya > 95% de ocupación del elemento operador *lac* en una bacteria, lo que asegura transcripción de gen operón *lac* basal baja (pero no de cero) en ausencia de señales inductoras.

Un análogo de la lactosa que tiene la capacidad de inducir el operón *lac*, si bien no sirve por sí mismo como un sustrato para la β-galactosidasa, es un ejemplo de un **inductor gratuito**. Un ejemplo es el isopropiltiogalactósido (IPTG). La adición de lactosa o de un inductor gratuito como IPTG a bacterias que están creciendo en una fuente de carbono poco utilizada (como succinato) da por resultado la inducción expedita de las enzimas del operón *lac*. Pequeñas cantidades del inductor gratuito o de lactosa tienen la capacidad de entrar en la célula incluso en ausencia de permeasa. Las moléculas represoras LacI (tanto las que están fijas a los *loci* operadores como las que están libres en el citosol) tienen afinidad alta por el inductor. La unión de este último a molécula represora induce un cambio de conformación en la estructura del represor, y hace que se disocie del DNA operador porque su afinidad por el operador ahora es 10^4 veces más baja (K_d de alrededor de 10^{-9} mol/L) que la de LacI en ausencia de IPTG. La RNA polimerasa dependiente de DNA ahora puede unirse al sitio promotor (figuras 36-3 y 36-8), y la transcripción empezará, aunque este proceso es relativamente ineficiente (véase más adelante). De tal manera, **un inductor "desreprime" el operón *lac***, y permite la transcripción de los genes estructurales que codifican para β-galactosidasa, galactósido permeasa y tiogalactósido transacetilasa. La traducción del mRNA policistrónico puede ocurrir incluso antes de que se complete la transcripción. La desrepresión del operón *lac* permite que la célula sintetice las enzimas necesarias para catabolizar lactosa como una fuente de energía. Con base en las características fisiológicas descritas, la expresión, inducida por IPTG, de plásmidos que fueron objeto de transfección, y que portan el operador-promotor *lac* ligado a construcciones apropiadas obtenidas mediante procesos de bioingeniería, suele usarse para expresar proteínas recombinantes de mamífero en *E. coli*.

Para que la RNA polimerasa forme un PIC en el sitio promotor con mayor eficiencia, también debe estar presente la CAP a la cual el cAMP está unido. Por medio de un mecanismo inde-

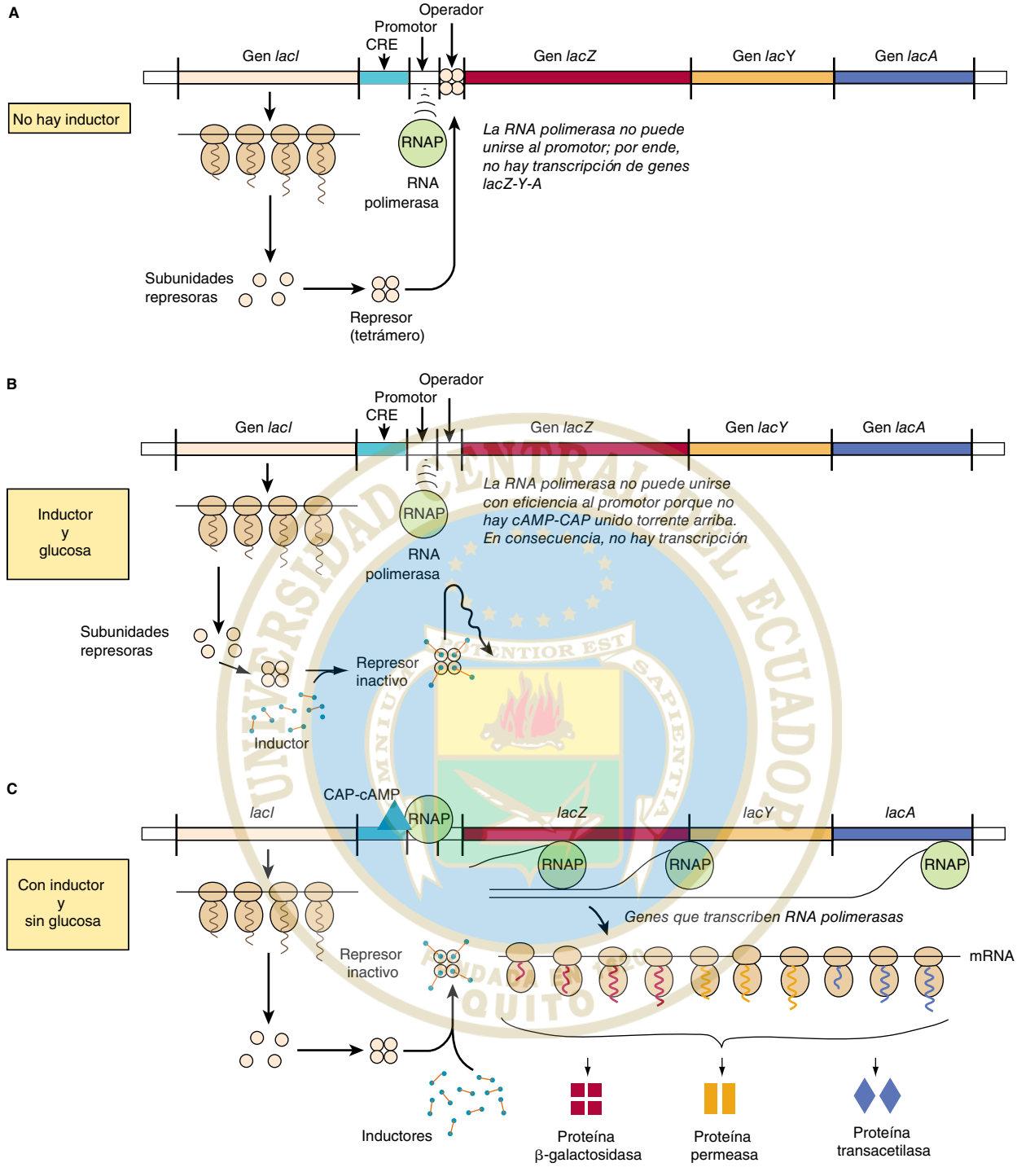


FIGURA 38-3 **El mecanismo de represión y desrepresión del operón *lac*.** En ausencia de inductor (**A**) los productos del gen *lacI* sintetizados de manera constitutiva forman una molécula tetrámero represora que se une en el operador. La unión de represor-operador evita la unión de RNA polimerasa y, en consecuencia, evita la transcripción de los genes estructurales *lacZ*, *lacY* e *lacA* hacia un mRNA policistrónico. Si hay inductor, pero también hay glucosa en el medio de cultivo (**B**), el inductor altera desde el punto de vista conformacional las moléculas represoras tetraméricas y éstas no pueden unirse con eficiencia al *locus* operador (reducción de la afinidad de unión > 1 000 veces). Empero, la RNA polimerasa no se unirá con eficiencia al promotor y no iniciará la transcripción porque las interacciones positivas proteína-proteína entre la proteína CAP unido a CRE no ocurren y, por ende, el operón *lac* no es transcrito de manera eficaz. Con todo, cuando hay inductor y hay agotamiento de glucosa en el medio (**C**) la adenililciclasa es activada y se produce cAMP. Este cAMP se une con afinidad alta a su proteína de unión, la proteína activadora de AMP cíclico, o CAP. El complejo de cAMP-CAP se une a su secuencia de reconocimiento (CRE, el elemento de respuesta a cAMP) ubicado ~ 15 bp torrente arriba del promotor. Los contactos proteína-proteína directos entre el CAP unido a CRE y la RNA polimerasa aumentan > 20 veces la unión de promotor; por ende, la RNAP transcribirá con eficiencia los genes estructurales *lacZ*, *lacY* e *lacA*, y la molécula de mRNA policistrónico formada puede traducirse hacia las moléculas de proteína correspondientes β-galactosidasa, permeasa y transacetilasa como se muestra. Dicha proteína de producción permite el catabolismo celular de lactosa como la única fuente de carbono para el crecimiento.

pendiente, la bacteria acumula cAMP sólo cuando está privada de una fuente de carbono. En presencia de glucosa (o de glicerol en concentraciones suficientes para crecer) las bacterias carecerán de suficiente cAMP para unirse a CAP porque la glucosa inhibe a la adenililciclasa, la enzima que convierte ATP en cAMP (capítulo 41). De esta manera, en presencia de glucosa o glicerol, no hay CAP saturada con cAMP, de modo que la RNA polimerasa dependiente de DNA no puede iniciar la transcripción del operón *lac* al índice máximo. Sin embargo, en presencia del complejo de CAP-cAMP, que se une al DNA justo torrente arriba del sitio promotor, la transcripción ocurre a niveles máximos (figura 38-3). Los estudios indican que una región de CAP entra en contacto con la subunidad α de la RNA polimerasa y estas interacciones proteína-proteína facilitan la unión de RNAP al promotor. Así, el regulador CAP-cAMP está actuando como un **regulador positivo** porque se requiere su presencia para la expresión óptima de gen. Por ende, el operón *lac* está controlado por dos factores *trans* de unión a DNA modulados por ligando, distintos; uno que actúa de manera positiva (complejo de cAMP-CRP) para facilitar la unión productiva de RNA polimerasa al promotor, y uno que actúa de manera negativa (represor LacI) que antagoniza la unión del promotor RNA polimerasa. La actividad máxima del operón *lac* ocurre cuando las concentraciones de glucosa son bajas (cAMP alto con activación de CAP) y hay lactosa (se evita que LacI se una al operador).

Cuando el gen *lacI* se ha mutado de modo que su producto, LacI, es incapaz de unirse al DNA operador, el organismo mostrará **expresión constitutiva** del operón *lac*. De una manera contraria, un organismo con una mutación del gen *lacI* que produce una proteína LacI que evita la unión de un inductor al represor, permanecerá reprimido incluso en presencia de la molécula inductora, porque el inductor no puede unirse al represor en el *locus* operador para desreprimir al operón. De modo similar, las bacterias que albergan mutaciones en su locus operador *lac* de modo que la secuencia operadora no se unirá a una molécula represora normal, expresan de manera constitutiva los genes que codifican para el operón *lac*. En células eucarióticas se han observado mecanismos de regulación positiva y negativa comparables a los aquí descritos para el sistema *lac* (véase más adelante).

El cambio genético del bacteriófago lambda (λ) proporciona otro paradigma para las interacciones entre proteína y DNA y regulación transcripcional en células eucarióticas

Al igual que algunos virus eucarióticos (p. ej., virus del herpes simple, HIV), algunos virus bacterianos pueden residir en un estado latente dentro de los cromosomas del huésped, o replicarse dentro del huésped bacteriano y finalmente llevar a lisis y muerte del mismo. Algunas *E. coli* albergan un virus "plantilla" de ese tipo, el bacteriófago lambda (λ). Cuando este último infecta a un organismo de esa especie, inyecta hacia la célula su genoma de DNA lineal, bicatenario, de 45 000 bp (**figura 38-4**). Según el estado nutricional de la célula, el DNA del bacteriófago lambda se **integrará** en el genoma del huésped (**vía lisogénica**) y permanecerá latente hasta que se active (véase más adelante), o empezará a **replicarse** hasta que ha hecho alrededor de 100 copias de virus completo, lleno de proteína, momento en el cual

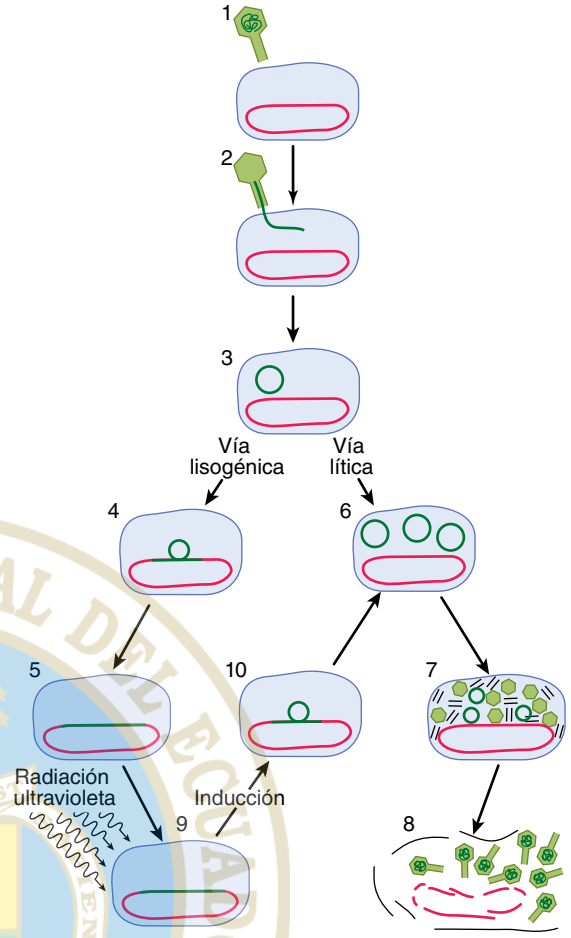


FIGURA 38-4 Estilos de vida alternos de la lambda bacteriófaga. La infección de la bacteria *E. coli* por el fago lambda empieza cuando una partícula de virus se fija por sí misma a receptores específicos sobre la célula bacteriana (**1**) e inyecta su DNA (línea de color verde oscuro) hacia la célula (**2, 3**). La infección puede adoptar una u otra de dos vías dependiendo de cuál de los dos grupos de genes virales está activado. En la vía lisogénica, el DNA viral queda integrado en el cromosoma bacteriano (rojo) (**4, 5**), donde se replica de manera pasiva como parte del DNA bacteriano durante la división celular *E. coli*. Este virus latente, integrado desde el punto de vista genómico, se llama profago, y la célula que lo alberga se llama lisógeno. En el modo de infección lítico alternativo, el DNA viral se escinde desde el cromosoma de *E. coli* replica por sí mismo (**6**) y dirige las síntesis de proteínas virales (**7**). Se forman alrededor de 100 partículas de virus nuevas. Los virus que están proliferando inducen lisis de la célula (**8**). Un profago puede ser "inducido" por un agente que daña el DNA, como la radiación ultravioleta (**9**). El agente inductor arroja un cambio, de modo que se activa un grupo diferente de genes. El DNA viral forma asas que salen del cromosoma (**10**) y se replica; el virus procede a lo largo de la vía lítica. (Reproducido, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128).

causa lisis de su huésped (**vía lítica**). Las partículas de virus recién generadas a continuación pueden infectar a otros huéspedes susceptibles. Las condiciones de crecimiento inadecuadas favorecen la lisogenia, mientras que las condiciones de crecimiento buenas promueven la vía lítica de crecimiento del bacteriófago lambda.

Cuando se integra en el genoma del huésped en su estado latente, el bacteriófago lambda permanecerá en ese estado en tanto no se active por exposición de su huésped bacteriano a agentes que dañan el DNA. En respuesta a ese estímulo nocivo, el

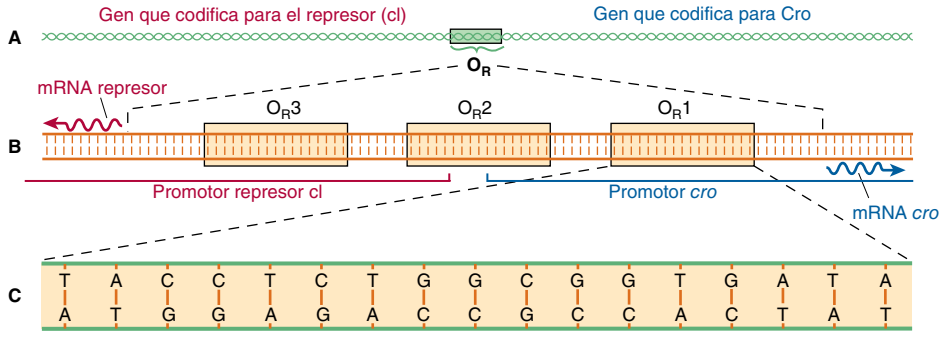


FIGURA 38-5 Organización genética del estilo de vida lambda "cambio (switch) molecular". El operador derecho (O_R) se muestra con detalle creciente en esta serie de dibujos. El operador es una región del DNA viral de alrededor de 70 pares de base (bp) de largo (**A**). A su izquierda yace el gen que codifica para represor de lambda (cI), a su derecha está el gen *(cro)* que codifica para la proteína reguladora Cro. Cuando la región operadora se amplía (**B**), se observa que incluye tres subregiones: O_R1, O_R2 y O_R3, cada una de 17 bp de largo. Son sitios de reconocimiento a los cuales puede unirse tanto el represor cI λ como las proteínas Cro. Los sitios de reconocimiento superponen dos promotores divergentes (secuencias de bases a las cuales la RNA polimerasa se une para transcribir estos genes hacia mRNA [líneas onduladas], que se traducen hacia proteína). El sitio O_R1 está ampliado (**C**) para mostrar su secuencia de base. (Reproducido, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982; 247:128).

bacteriófago latente queda "inducido" y empieza a transcribir y después a traducir los genes de su propio genoma que son necesarios para su escisión desde el cromosoma huésped, su replicación de DNA, y la síntesis de su cubierta proteínica y sus enzimas líticas. Este evento actúa como una respuesta desencadenante o tipo C (figura 38-1); esto es, una vez que el bacteriófago lambda latente se ha comprometido a sí mismo a inducción, no hay regreso hasta que la célula se lisa y el bacteriófago replicado se libera. Este cambio desde un estado latente o de **profago** hacia una **infección lítica** se entiende bien en los ámbitos genético y molecular, y se describirá con detalle aquí; aunque se comprende menos bien en el ámbito molecular, el HIV y el virus del herpes pueden comportarse de manera similar, haciendo una transición de la forma latente a activa de la infección.El evento de cambio genético lítico/lisogénico en el bacteriófago lambda se centra alrededor de una región de 80 bp en su genoma de DNA bicatenario, denominada el "operador derecho" (O_R) (**figura 38-5A**). El **operador derecho** está flanqueado en su lado izquierdo por el gen estructural de la proteína represora lambda, ***cI***, y en su lado derecho por el gen estructural que codifica para otra proteína reguladora llamada ***cro***. Cuando el bacteriófago lambda se encuentra en su estado de profago (esto es, integrado en el genoma del huésped), el gen represor *cI* es el *único* gen del mismo que se expresa. Cuando el bacteriófago lambda está pasando por crecimiento lítico, el gen represor *cI* no se expresa, pero sí se expresan el gen *cro* (así como muchos otros genes en lambda). Es decir**, cuando el gen represor está activado, el gen *cro* está desactivado**, y cuando **el gen *cro* está activado, el gen represor *cI* está desactivado**. Como se verá, estos dos genes regulan la expresión uno del otro y, así, finalmente, la decisión entre crecimiento lítico y lisogénico del bacteriófago lambda. Esta decisión entre transcripción de gen represor y transcripción de gen *cro* es un ejemplo paradigmático de un cambio transcripcional molecular.

El operador derecho lambda de 80 bp, O_R, puede subdividirse en tres elementos de DNA *cis*-activos de 17 bp, espaciados de manera uniforme, separados, que representan los sitios de unión de una u otra de dos proteínas reguladoras de bacteriófago lambda. Es importante que las secuencias de nucleótido de estos tres sitios dispuestos en tándem son similares, mas no idénticas (**figura 38-5B**). Los tres elementos *cis* relacionados, llamados operadores O_R1, O_R2 y O_R3, pueden ser unidos por proteínas cI o Cro. Sin embargo, las afinidades relativas de cI y Cro por cada uno de los sitios varían, y esta afinidad de unión diferencial es fundamental para la operación apropiada del "cambio molecular" lítico o lisogénico del fago lambda. La región de DNA entre los genes *cro* y represor también contiene dos secuencias promotoras que dirigen la unión de RNA polimerasa en una orientación especificada, donde comienza a transcribir genes adyacentes. Un promotor dirige a la RNA polimerasa para que transcriba **hacia la derecha** y, así, para que transcriba *cro* y otros genes distales, mientras que el otro promotor dirige la transcripción del gen **represor *cI* hacia la izquierda** (figura 38-5B).

El producto del gen represor *cI*, la **proteína represora** λ cI de 136 aminoácidos es una molécula de **dos dominios** con **dominio de unión a DNA amino terminal y dominio de dimerización carboxilo terminal.** La asociación de una proteína represora con otra forma un dímero. Los **dímeros** represores cI se unen al DNA operador de manera mucho más estrecha que los monómeros (**figura 38-6A** a **38-6C**).

El producto del gen *cro,* la **proteína Cro** de 9 kDa y 66 aminoácidos, tiene un dominio único pero también se une al DNA operador de manera más estrecha que un dímero (**figura 38-6D**). El dominio único de la proteína Cro media tanto la unión a operador como la dimerización.

En una bacteria lisogénica (esto es, una bacteria que contiene un profago lambda latente integrado), el dímero represor de lambda se une de preferencia a O_R1, pero al hacerlo, mediante

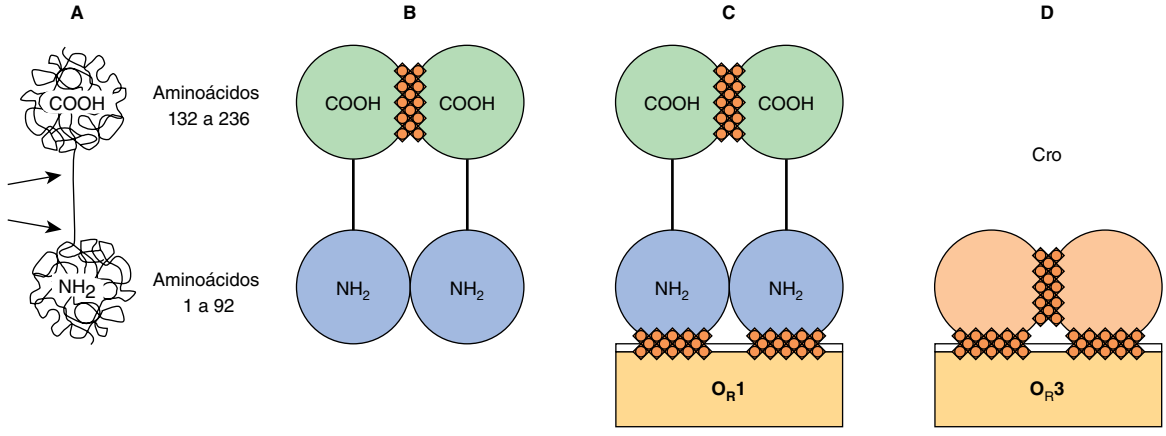


FIGURA 38-6 Estructuras moleculares esquemáticas de proteínas reguladoras lambda cI y Cro. La proteína represora lambda es una cadena polipeptídica de 236 aminoácidos de largo. La cadena se pliega por sí misma hacia una forma en pesa con dos subestructuras: un dominio amino terminal (NH_2) y un dominio carboxilo terminal (COOH). Los dos dominios están enlazados mediante una región de la cadena que está menos estructurada y es susceptible a división por proteasas (indicado por las dos flechas en (**A**). Moléculas represoras únicas (monómeros) tienden a asociarse de manera reversible para formar dímeros. (**B)** Un dímero es mantenido junto principalmente por contacto entre los dominios carboxilo terminal (eclosión [*hatching*]). Los dímeros represores cI se unen a los sitios de reconocimiento en la región operadora (y pueden disociarse de los mismos); muestran afinidades diferenciales por los tres sitios operadores, $O_R1 > O_R2 > O_R3$ (**C**). Es el dominio de unión a DNA (DBD) de la molécula represora el que hace contacto con el DNA (eclosión). Cro **(D)** tiene un dominio único con sitios que promueven la dimerización y otros sitios que promueven la unión de dímeros al operador. cro muestra la afinidad más alta por O_R3, opuesto a la preferencia de unión a secuencia de la proteína cI. (Reproducido, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128).

una interacción cooperativa, aumenta la unión (por un factor de 10) de otro dímero represor a O_R2 (**figura 38-7**). La afinidad del represor por O_R3 es la menor de las tres subregiones operadoras. La unión del represor a O_R1 tiene dos efectos importantes. La ocupación de O_R1 por represor bloquea la unión de la RNA polimerasa al promotor hacia la derecha, y de esa manera evita la expresión de *cro*. En segundo lugar, como se mencionó, el dímero represor unido a O_R1 aumenta la unión del dímero represor a O_R2. La unión del represor a O_R2 tiene el importante efecto adicional de aumentar la unión de la RNA polimerasa al promotor hacia la izquierda que superpone O_R3 y, así, aumenta la transcripción y la expresión subsiguiente del gen represor. Este aumento de la transcripción está mediado por interacciones directas entre una proteína y otra, entre RNA polimerasa unida a promotor y represor unido a O_R2, de una manera muy similar a la antes descrita para la proteína CAP y la RNA polimerasa en el operón *lac*. De este modo, el **represor λ cI** es tanto un **regulador negativo**, al evitar la transcripción de cro, como un **regulador positivo**, al aumentar la transcripción de su propio gen, *cI*. Este efecto doble del represor es la causa del estado estable del bacteriófago lambda latente; el represor no sólo evita la expresión de los genes necesarios para lisis, sino que también promueve la expresión de sí mismo para estabilizar este estado de diferenciación. Si la concentración intracelular de proteína represora se hace demasiado alta, este represor excesivo se unirá a O_R3, y al hacerlo disminuye la transcripción del gen represor desde el promotor hacia la izquierda bloqueando la unión de RNAP al promotor cI, hasta que la concentración de represor decrece y el represor se disocia por sí mismo de O_R3. Despierta interés que en eucariotas se han observado ejemplos similares de proteínas represoras que también tienen la capacidad de activar la transcripción.

Con ese estado lisogénico, mediado por cI, represivo, estable, podría preguntarse de qué modo alguna vez se podría entrar al sitio lítico; sin embargo, este proceso ocurre con bastante eficiencia. Cuando una señal de daño del DNA, como luz ultravioleta, golpea la bacteria huésped lisogénica, se generan fragmentos de DNA monocatenario que activan una co-proteasa específica codificada por un gen bacteriano y denominada *recA* (figura 38-7). La proteasa recA activada hidroliza la porción de la proteína represora que conecta los dominios amino terminal y carboxilo terminal de esa molécula (figura 38-6A). Esa división de los dominios represores hace que los dímeros represores se disocien lo que, a su vez, causa disociación de las moléculas represoras desde O_R2, y finalmente desde O_R1. Los efectos de la eliminación de receptor desde O_R1 y O_R2 son predecibles. La RNA polimerasa inmediatamente tiene acceso al promotor hacia la derecha, y comienza a transcribir el **gen *cro*** y se pierde el efecto aumentador del represor en O_R2 en la transcripción hacia la izquierda (figura 38-7).

La proteína Cro recién sintetizada resultante también se une a la región del operador como un dímero, pero este orden de preferencia es opuesto al del represor (figura 38-7). Es decir, Cro se une de manera más estrecha a O_R3, pero no hay efecto cooperador de O_R3 sobre la unión de Cro a O_R2. A concentraciones cada vez más altas de Cro, la proteína se unirá a O_R2 y finalmente a O_R1.

La ocupación de O_R3 por Cro desactiva de inmediato la transcripción desde el promotor *cI* hacia la izquierda, y de esa manera **evita cualquier expresión adicional del gen represor**. De esta manera, el cambio molecular se "arroja" por completo

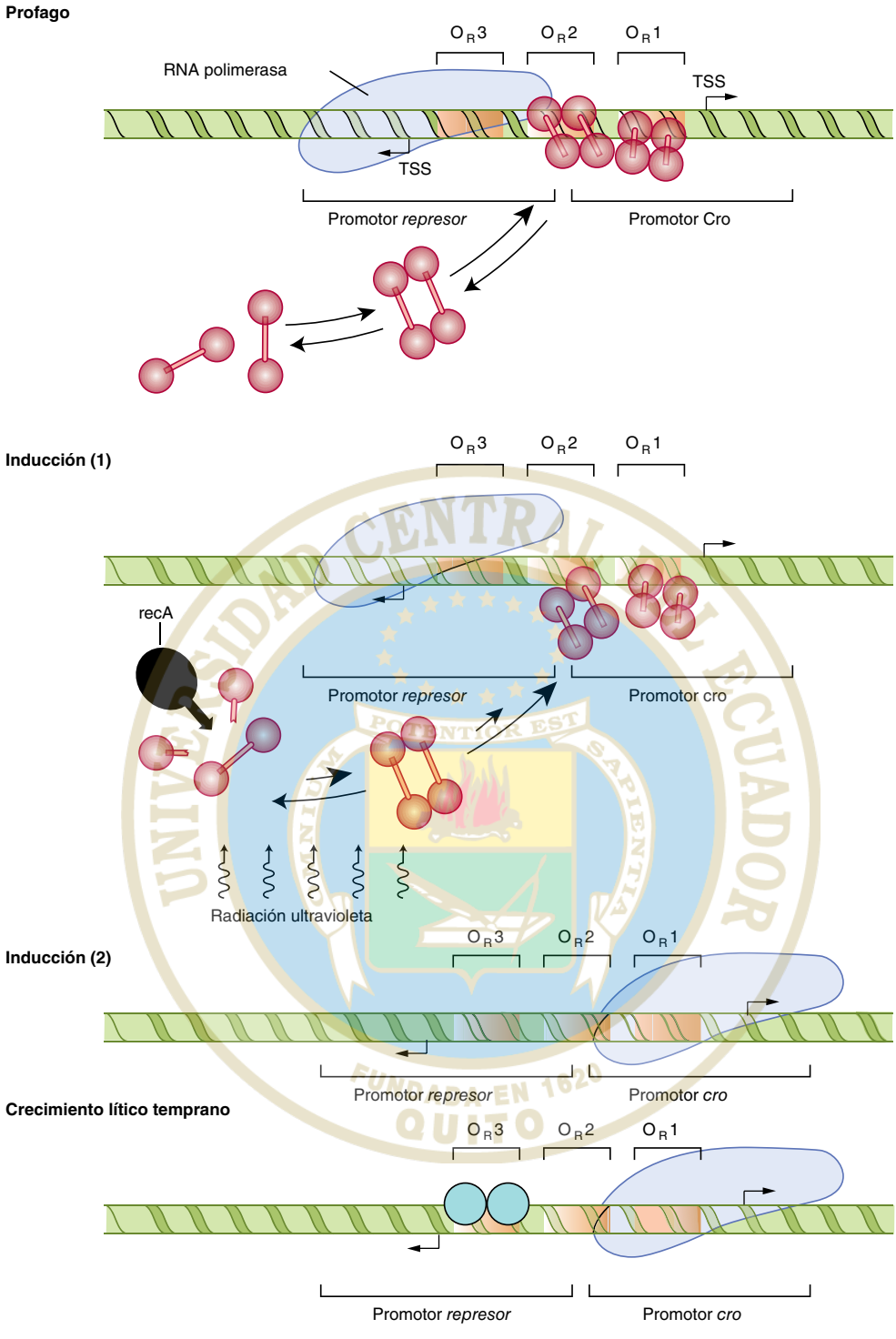


FIGURA 38-7 La configuración del cambio lítico/lisogénico se muestra en las cuatro etapas del ciclo de vida de lambda. La vía lisogénica (en la cual el virus permanece latente como un profago) se selecciona cuando un dímero represor se une a O_R1, lo que hace que sea probable que O_R2 sea llenado de inmediato por otro dímero. En el profago **(arriba)**, los dímeros represores unidos en O_R1 y O_R2 evitan que la RNA polimerasa se una al promotor hacia la derecha y, así, bloquea la síntesis de Cro (control negativo). Simultáneo a esta unión de proteínas DNA cI aumenta la unión de polimerasa al promotor hacia la izquierda (control positivo), con el resultado de que el gen represor se transcribe hacia RNA (línea ondulada; inicio en el punto inicial de transcripción (TSS) del gen cI), y se sintetiza más represor, lo que mantiene el estado lisogénico. El profago se induce **(en medio)** cuando la radiación ultravioleta activa a la proteasa recA, que divide monómeros represores. El equilibrio de monómeros libres, dímeros libres y dímeros unidos, por ello, se desvía, y los dímeros abandonan los sitios operadores. La RNA polimerasa ya no se estimula para que se una al promotor hacia la izquierda, de modo que ya no se sintetiza el represor. A medida que procede la inducción, todos los sitios operadores quedan vacantes y, así, la polimerasa puede unirse al promotor hacia la derecha, y se sintetiza Cro (se muestra el *cro* TSS). Durante el crecimiento lítico temprano un dímero Cro único se une a O_R3 (círculos sombreados de azul claro), el sitio para el cual tiene la más alta afinidad. En consecuencia, la RNA polimerasa no puede unirse al promotor hacia la izquierda, pero el promotor hacia la derecha permanece accesible. La polimerasa sigue unida ahí, transcribe *cro* y otros genes líticos tempranos. Surge crecimiento lítico **(abajo)**. (Reproducido, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128).

en la dirección lítica. El gen *cro* ahora se expresa, y el gen represor se desactiva por completo; este evento es irreversible, y la expresión de otros genes del bacteriófago lambda empieza como parte del ciclo lítico. Cuando la concentración de represor Cro se hace bastante alta, finalmente ocupará O_R1 y al hacerlo reduce la expresión de su propio gen, proceso que es necesario para que se realicen las etapas finales del ciclo lítico.

Las estructuras tridimensionales de Cro y de la proteína represora lambda se han determinado mediante cristalografía con rayos X, y se han propuesto y probado modelos para su unión y para efectuar los eventos moleculares y genéticos antes descritos. Ambos se unen al DNA usando motivos de dominio de unión a DNA (DBD) de hélice-giro-hélice (véase más adelante). Hasta la fecha, este sistema proporciona, según se dice, la mejor comprensión de los eventos moleculares involucrados en la activación y represión de gen.

El análisis detallado del represor lambda llevó al importante concepto de que las proteínas reguladoras de la transcripción tienen varios dominios funcionales. Por ejemplo, el represor lambda se une al DNA con alta afinidad. Los monómeros represores forman dímeros, que interactúan de manera cooperativa entre sí, y el represor interactúa con la RNA polimerasa para aumentar o bloquear la unión del promotor o la formación del complejo abierto de RNAP (figura 36-3). La interfaz de proteína-DNA y las tres interfases de proteína-proteína comprenden dominios separados y distintos de la molécula represora. Como se explica más adelante (figura 38-19), ésta es una característica compartida por casi todas las moléculas (quizá todas) que regulan la transcripción.

CARACTERÍSTICAS ESPECIALES PARTICIPAN EN LA REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE GEN EUCARIÓTICO

Casi todo el DNA en células procarióticas está organizado en genes y dado que el DNA no se encuentra compactado con histonas nucleosomales, siempre tiene el potencial de ser transcritas si se activan factores *trans* positivos y negativos apropiados. Existe una situación muy diferente en células de mamífero, en las cuales relativamente poco del DNA total está organizado hacia genes que codifican para mRNA y sus regiones reguladoras asociadas. La función del DNA extra se está investigando de manera activa (capítulo 39; el ENCODE Project). Más importante aún, como se muestra en el capítulo 35, en células eucarióticas el DNA se encuentra extensamente plegado y aglomerado hacia el complejo de proteína-DNA llamado cromatina. Las histonas son una parte importante de este complejo, porque ambos forman estructuras conocidas como nucleosomas (capítulo 35) y son también un factor importante en los mecanismos reguladores de gen, como se explica más adelante.

La plantilla de cromatina contribuye de manera importante al control de la transcripción de gen eucarionte

La **estructura de la cromatina** proporciona un nivel de control adicional de la transcripción de gen. Regiones grandes de cromatina son inactivas desde el punto de vista transcripcional, mientras que otras son activas o potencialmente activas (capítulo 35). Con pocas excepciones, cada célula contiene el mismo conjunto de genes. El desarrollo de órganos, tejidos y células especializados, y su función en el organismo intacto, dependen de la expresión diferencial de genes.

Parte de esta expresión diferencial se logra al tener diferentes regiones de cromatina disponibles para transcripción en células de diversos tejidos. Por ejemplo, el DNA que contiene la agrupación de gen que codifica para globina β está en **cromatina "activa"** en el reticulocito, pero en **cromatina "inactiva"** en células musculares. No se han elucidado todos los factores involucrados en la determinación de cromatina activa. La presencia de nucleosomas y de complejos de histonas y DNA (capítulo 35) ciertamente proporciona una barrera contra la asociación fácil de factores de transcripción con regiones de DNA específicas. Por ende, la dinámica de la formación de la estructura de nucleosoma y de la alteración de la misma es una parte importante de la regulación de gen eucarionte.

La **modificación covalente de histona**, también llamada el **código de histona**, es un determinante importante de la actividad de gen. Las histonas están sujetas a una amplia gama de modificaciones postraduccionales específicas (cuadro 35-1); tales modificaciones son dinámicas y reversibles. La acetilación de histona y la desacetilación de la misma se entienden mejor. El sorprendente descubrimiento de que la histona acetilasa y otras actividades enzimáticas están asociadas con los correguladores involucrados en la regulación de la transcripción de gen (capítulo 42) ha proporcionado un nuevo concepto de regulación de gen. Se sabe que ocurre acetilación en residuos de lisina en las colas amino terminales de moléculas de histona, y se ha correlacionado de manera constante con transcripción, o de modo alternativo con el potencial transcripcional. La acetilación de histona reduce la carga positiva de estas colas, y probablemente contribuye a un decremento de la afinidad de unión de histona por el DNA que tiene carga negativa. Más aún, esa modificación covalente de las histonas crea nuevos sitios de unión para proteínas adicionales como complejos remodeladores de cromatina dependientes de ATP, que contienen subunidades que portan dominios estructurales que se unen de manera específica a histonas que han quedado sujetas a modificaciones postraduccionales (PTM) depositadas por correguladores. Estos complejos pueden aumentar la accesibilidad de secuencias de DNA adyacentes al eliminar histonas nucleosomales. Los correguladores (modificadores de cromatina y remodeladores de cromatina), al trabajar de manera conjunta, pueden abrir regiones promotoras y reguladoras de gen, lo que facilita la unión de otros factores *trans* y RNA polimerasa II y GTF (figuras 36-10 y 36-11). La desacetilación de histona catalizada por correpresores transcripcionales tendría el efecto opuesto. Diferentes proteínas con actividades de acetilasa y desacetilasa específicas están asociadas con diversos componentes del aparato de transcripción. Las proteínas que catalizan las PTM de histona a veces se denominan **"redactores de código"**, mientras que las proteínas que reconocen estas PTM de histona, se unen a las mismas y las interpretan se llaman **"lectoras de código"**, y las enzimas que eliminan PTM de histona se llaman **"borradoras de código"**. Entonces, en conjunto, PTM de histona representan una fuente de información reguladora en potencia rica en información, muy dinámica. Se están investigando las

reglas y los mecanismos exactos que definen la especificidad de estos diversos procesos. En el capítulo 42 se ilustran algunos ejemplos específicos. Varias empresas comerciales están trabajando para desarrollar fármacos que alteren de manera específica la capacidad de las proteínas que modulan el código de histona.

En el capítulo 35 se describe la evidencia de que la **metilación de residuos desoxicitidina** (en la secuencia 5′-^{me}CpG-3′) en el DNA puede efectuar cambios en la cromatina, de modo que impide su transcripción activa. Por ejemplo, en el hígado de ratón, sólo pueden expresarse los genes ribosómicos no metilados, y hay evidencia de que muchos virus de animales no se transcriben cuando su DNA está metilado. La desmetilación aguda de residuos 5MeC en regiones específicas de genes inducibles que codifican para hormona esteroide se ha relacionado con un índice aumentado de transcripción del gen. Sin embargo, aún es imposible generalizar que el DNA metilado es inactivo desde el punto de vista transcripcional, que toda la cromatina inactiva está metilada, o que el DNA activo no está metilado.

Por último, la unión de factores de transcripción específicos a elementos de DNA cognados puede dar por resultado alteración de la estructura nucleosómica. Muchos genes eucarióticos tienen múltiples elementos de DNA de unión a proteína. La unión seriada de factores de transcripción a estos elementos (de un modo combinacional) puede alterar de manera directa la estructura del nucleosoma, evitar que vuelva a formarse, o reclutar, por medio de interacciones entre una proteína y otra, complejos correguladores de múltiples proteínas que tienen la capacidad para modificar o remodelar de manera covalente nucleosomas. Estas reacciones dan por resultado cambios estructurales en el ámbito de cromatina, que al final aumentan la accesibilidad del DNA a otros factores y a la maquinaria de transcripción.

El DNA eucariótico, que se encuentra en una región "activa" de cromatina, se puede transcribir. Al igual que en células procarióticas, un **promotor** dicta dónde iniciará la transcripción la RNA polimerasa, pero el promotor en células de mamífero (capítulo 36) es más complejo. Se añade más complejidad por elementos o factores que aumentan o reprimen la transcripción, definen la expresión específica para tejido, y modulan las acciones de muchas moléculas efectoras. Por último, resultados recientes sugieren que la activación y represión de gen podría ocurrir cuando genes particulares se movilizan hacia dentro o fuera de diferentes compartimientos o ubicaciones subnucleares.

Los mecanismos epigenéticos contribuyen de manera importante al control de la transcripción de gen

Las moléculas y la biología reguladora antes descritas contribuyen de manera importante a la regulación de la transcripción. De hecho, durante los años recientes el papel de la modificación covalente de DNA y proteínas histona y no histona, y los ncRNA recién descubiertos han recibido tremenda atención en el campo de la investigación sobre la regulación de gen, en particular por medio de investigación sobre cómo esas modificaciones químicas, o moléculas, o ambas, alteran de manera estable patrones de expresión génica sin alterar la secuencia de gen de DNA subyacente. Este campo de estudio se ha llamado **epigenética**. Un aspecto de estos mecanismos, las PTM de histonas, se ha denominado el **código de histona** o el código epigenético de histona (capítulo 35). El término "epigenética" significa "por arriba de la genética" y se refiere al hecho de que estos mecanismos reguladores no cambian la secuencia de DNA regulada subyacente, sino más bien simplifican los patrones de expresión de este DNA. Los mecanismos epigenéticos desempeñan funciones clave en el establecimiento, el mantenimiento y la reversibilidad de estados transcripcionales. Una característica clave de los mecanismos epigenéticos es que los estados transcripcionales activados/desactivados controlados pueden mantenerse por medio de múltiples rondas de división celular. Esta observación indica que debe haber mecanismos robustos para mantener estos estados epigenéticos y propagarlos de manera estable.

Pueden describirse dos formas de señales epigenéticas, señales epigenéticas *cis* y *trans;* éstas se ilustran de manera esquemática en la **figura 38-8**. En la **figura 38-8A** se presenta un evento de emisión de señal *trans* sencillo compuesto de retroacción transcripcional positiva mediada por un transactivador difusible abundante que se divide entre las células progenitora e hija en cada división. En tanto el factor de transcripción indicado es expresado a una magnitud suficiente para permitir que todas las células hija subsiguientes hereden la señal epigenética *trans* (factor de transcripción), esas células tendrán el fenotipo celular o molecular dictado por los otros genes blanco de este activador transcripcional. En la figura 38-8, panel B, se presenta un ejemplo de cómo una señal epigenética *cis* (como una marca de metilación 5MeCpG específica) puede propagarse de manera estable a las dos células hijas después de la división celular. La marca de DNA hemimetilado (esto es, sólo una de las dos cadenas de DNA es modificada por 5MeC) generada durante la replicación de DNA dirige la metilación de la cadena recién replicada mediante la acción de DNA metilasas de mantenimiento omnipresentes. Esta metilación 5MeC da lugar a que ambas cadenas hijas de DNA tengan la marca epigenética *cis* completa.

Las señales epigenéticas tanto *cis* como *trans* dan por resultado estados de expresión estables y hereditarios y, por ende, representan respuestas de expresión génica tipo C (figura 38-1). Sin embargo, tiene importancia notar que ambos estados se pueden invertir si las señales epigenéticas *trans* o *cis* se eliminan, por ejemplo, al extinguir la expresión del factor de transcripción que hace que suceda esto (señal *trans*) o al eliminar una señal epigenética *cis* de DNA (por medio de desmetilación de DNA). Se han descrito enzimas que, al menos *in vitro,* pueden eliminar tanto PTM de proteína como modificaciones de 5MeC.

La transmisión estable de estados activados/desactivados epigenéticos puede efectuarse mediante múltiples mecanismos moleculares. En la **figura 38-9** se muestran tres maneras mediante las cuales las marcas epigenéticas *cis* pueden propagarse por una ronda de replicación de DNA. El primer ejemplo de transmisión de marca epigenética involucra la propagación de marcas de 5MeC de DNA, y ocurre como se describe en la figura 38-8. El segundo ejemplo de transmisión de estado epigenético ilustra cómo una PTM de histona nucleosomal (en este ejemplo, la histona H3 trimetilada lisina K-27; H3K27me3) puede propagarse. En este ejemplo inmediatamente después de la replicación de DNA, nucleosomas tanto marcados con H3K27me3 como no marcados con H3 se vuelven a formar al azar en ambas cadenas de DNA hijas. El complejo represor polycomb 2 (PRC2),

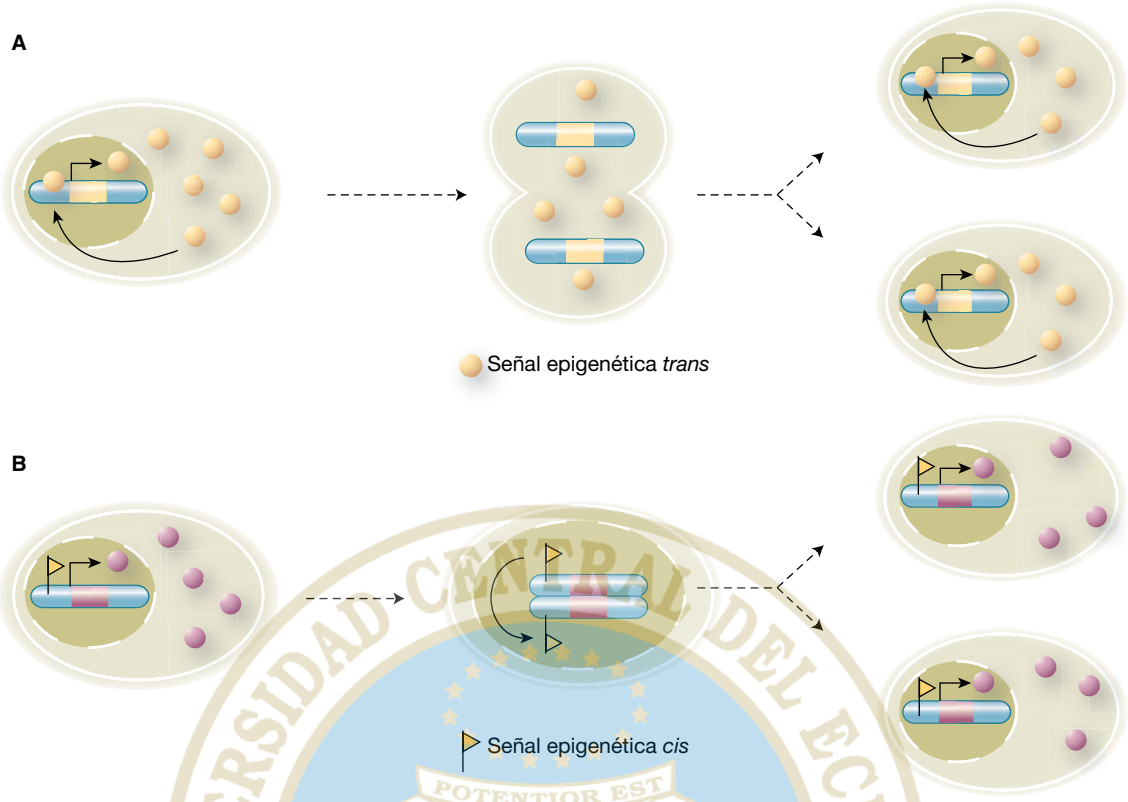


FIGURA 38-8 Señales epigenéticas *cis* y *trans*. (A) Un ejemplo de una señal epigenética que actúa en *trans*. Una proteína transactivadora de unión a DNA (círculo amarillo) es transcrita a partir de su gen cognado (barra amarilla) ubicado en un cromosoma particular (azul). La proteína expresada es libremente difusible entre los compartimientos nuclear y citoplasmático. Note que el transactivador excesivo vuelve a entrar al núcleo después de la división celular, se une a su propio gen y activa la transcripción en ambas células hijas. Este ciclo vuelve a establecer el asa de retroacción positiva que estaba funcionando antes de la división celular y, así, hace que haya expresión estable de esta proteína activadora transcripcional en ambas células. **(B)** Una señal epigenética *cis;* un gen (de color rosado) ubicado en un cromosoma particular (azul) porta una señal epigenética *cis* (bandera amarilla pequeña) dentro de la región reguladora torrente arriba de la unidad de transcripción de gen de color rosado. En este caso, la señal epigenética está asociada con transcripción de gen activa y producción subsiguiente de producto del gen (círculos rosados). Durante la replicación de DNA, la cromatina recién replicada sirve como una plantilla que desencadena y da forma a la introducción de la misma señal, o marca, epigenética, en la cromátide no marcada recién sintetizada. En consecuencia, ambas células hijas contienen el gen de color rosado en un estado similarmente marcado de modo epigenético *cis,* lo que asegura la expresión de una manera idéntica en ambas células. Véanse más detalles en el texto. (Imagen tomada de: Roberto Bonasio, R, Tu, S, Reinberg D, "Molecular Signals of Epigenetic States". *Science 2010;*330:612-616. Reimpreso con autorización de AAAS).

compuesto de subunidades EED-SUZ12-EZH2 y RbAP, se une al nucleosoma que contiene la marca de H3K27me3 preexistente por medio de la subunidad EED. La unión de PRC2 a esta marca de histona estimula la actividad de metilasa de la subunidad de PRC2, EZH2, lo que da lugar a la metilación local de H3 nucleosomal. Así, la metilación de histona H3 causa la transmisión completa y estable de la marca epigenética H3K27me3 a ambas cromátides. Por último, el direccionamiento específico para *locus*/secuencia de señales *cis* epigenéticas de histona nucleosomal puede lograrse mediante la acción de ncRNA (figura 38-9, panel C). Aquí un ncRNA específico interactúa con secuencias de DNA blanco, y el complejo de RNA-DNA resultante es reconocido por RBP, una proteína de unión a RNA. Entonces, probablemente por medio de una proteína adaptadora específica (A), el complejo de RNA-DNA-RBP recluta un complejo modificador de cromatina (CMC) que modifica localmente histonas nucleosomales. De nuevo, este mecanismo lleva a la transmisión de una marca epigenética estable.

Se requerirá más investigación para establecer los detalles moleculares completos de estos procesos epigenéticos, determinar la magnitud de la omnipresencia de la operación de estos mecanismos, identificar todas las moléculas involucradas, y los genes controlados. Las señales epigenéticas tienen importancia crucial para la regulación de gen según se evidencia por el hecho de que las mutaciones o la sobreexpresión, o ambas, de muchas de las moléculas que contribuyen al control epigenético llevan a enfermedad en humanos.

Ciertos elementos del DNA potencian o reprimen la transcripción de genes eucarióticos

Además de cambios evidentes en la cromatina que afectan la actividad transcripcional, ciertos elementos del DNA facilitan o aumentan el inicio en el promotor y, por ende, se denominan **potenciadores**. Los elementos potenciadores, que típicamente contienen múltiples sitios de unión para proteínas transactivadoras, difieren del promotor en aspectos notables. Pueden ejercer su influencia positiva sobre la transcripción aun cuando están separados por decenas de miles de pares de bases desde un promotor; funcionan cuando están orientados en una u otra dirección,

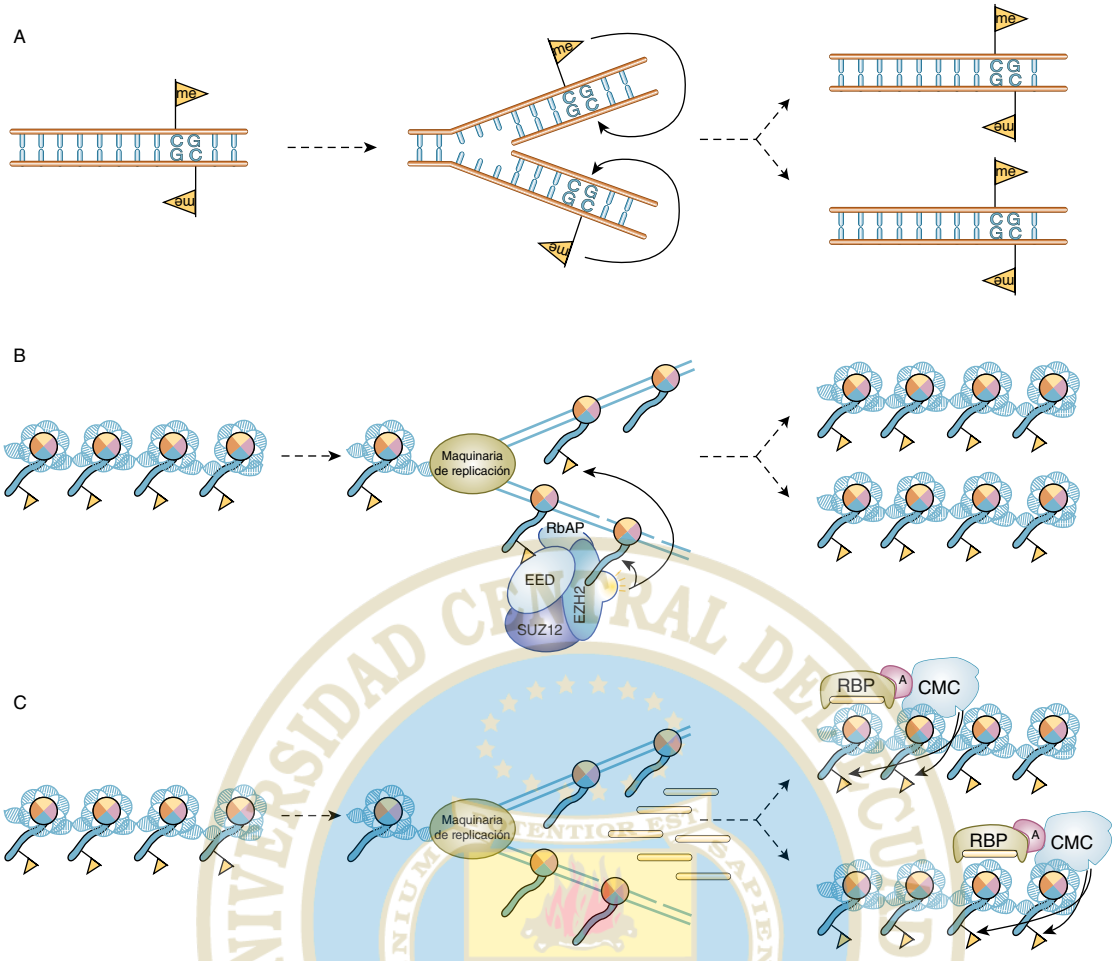


FIGURA 38-9 Mecanismos para la transmisión de señales epigenéticas, y para la propagación de las mismas, después de una ronda de replicación de DNA. (A) Propagación de una señal 5MeC (bandera amarilla; figura 38-8B). **(B)** Propagación de una señal epigenética de marca de PTM de histona (H3K27me) que está mediada por la acción del PRC2, un complejo modificador de cromatina (CMC). El PRC2 es una proteína de cuatro subunidades compuesta de EED, histona metilasa EZH2, RbAP y SUZ12. Note que en este contexto PRC2 es tanto una lectora de código de histona (por medio del dominio de unión a histona metilado en EED) como una redactora de código de histona (mediante el dominio SET de histona metilasa dentro de EZH2). El depósito (específico para ubicación) de la señal epigenética *cis* PTM de histona es dirigido por el reconocimiento de las marcas H3K27me en histonas nucleosomales preexistentes (bandera amarilla). **(C)** Otro ejemplo de la transmisión de una señal epigenética de histona (bandera amarilla) excepto que aquí el direccionamiento de señal está mediado por la acción de ncRNA pequeños, que funcionan conjuntamente con una proteína de unión a RNA (RBP), una proteína adaptadora (A) y un CMC. Véanse más detalles en el texto. (Imagen tomada de: Roberto Bonasio, R, Tu, S, Reinberg D: "Molecular Signals of Epigenetic States". *Science* 2010; 330:612-616. Reimpreso con autorización de AAAS).

y pueden trabajar torrente arriba (5′) o abajo (3′) desde el promotor. Los potenciadores son inespecíficos, de modo que pueden estimular cualquier promotor en la vecindad y actuar sobre más de un promotor. El potenciador SV40 viral puede ejercer una influencia sobre, por ejemplo, la transcripción de la globina β al aumentar su transcripción 200 veces en células que contienen tanto el potenciador SV40 como el gen que codifica para la globina β en el mismo plásmido (véase más adelante y la **figura 38-10**); en este caso, el potenciador SV40 del gen que codifica para globina β se construyó usando tecnología de DNA recombinante (capítulo 39). El elemento potenciador no produce un producto que a su vez actúa sobre el promotor, puesto que sólo es activo cuando existe dentro de la misma molécula de DNA que el (esto es, en posición *cis* o físicamente ligado al) promotor. Las proteínas de unión potenciadoras se encargan de este efecto. Los mecanismos exactos mediante los cuales funcionan estos activadores de la transcripción están sujetos a investigación intensiva. Los factores *trans* de unión a potenciador interactúan con muchísimas otras proteínas de transcripción. Estas interacciones incluyen coactivadores modificadores de cromatina, mediador, así como los componentes individuales de la maquinaria de transcripción de la RNA polimerasa II basal. Finalmente, los eventos de unión a DNA de factor *trans*-potenciador dan por resultado un aumento de la unión de la maquinaria de transcripción basal al promotor. Los elementos potenciadores y las proteínas de unión relacionadas a menudo transmiten hipersensibilidad a nucleasa a las regiones donde residen (capítulo 35). En el **cuadro 38-2** se presenta un resumen de las propiedades de los potenciadores.

Uno de los sistemas potenciadores de mamífero que se entienden mejor es el del gen que codifica para el interferón β; este gen se induce en el momento de infección viral de células de mamífero. Un objetivo de la célula, una vez infectada por un virus, es

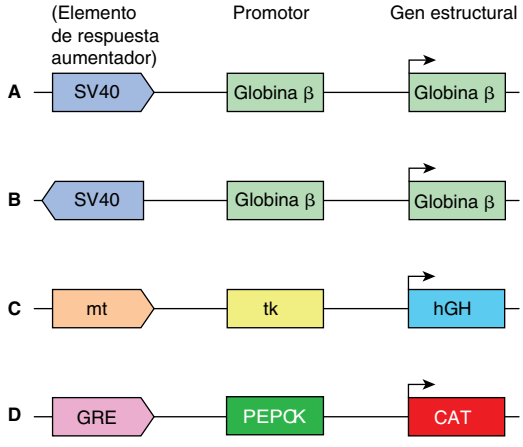


FIGURA 38-10 Ilustración esquemática que ilustra los métodos utilizados para estudiar la organización y acción de aumentadores y otros elementos reguladores de acción *cis*. Estos genes quiméricos modelo, todos construidos mediante técnicas de DNA recombinante *in vitro* (capítulo 39), constan de un gen reportero que codifica para una proteína que se puede valorar con facilidad, y que en circunstancias normales no se produce en las células que se van a estudiar, un promotor que asegura el inicio exacto de la transcripción y los elementos aumentadores reguladores indicados. En todos los casos, la transcripción de alto nivel desde las quimeras indicadas depende de la presencia de aumentadores, que estimulan la transcripción ≥ 100 veces sobre las cifras transcripcionales basales (esto es, transcripción de los mismos genes quiméricos que contienen sólo promotores fusionados a los genes reporteros indicados). Los ejemplos **(A)** y **(B)** ilustran el hecho de que los aumentadores (p. ej., SV40) trabajan en una u otra orientación y sobre un promotor heterólogo. El ejemplo **(C)** ilustra que el elemento regulador metaloproteína (mt) (que bajo la influencia del cadmio o cinc induce la transcripción del gen que codifica para mt endógeno y, por ende, la proteína mt de unión a metal) funcionará por medio del promotor timidina cinasa (tk) del virus del herpes simple (HSV) para aumentar la transcripción del gen reportero de la hormona de crecimiento humana (hGH). Las construcciones genéticas producidas mediante procedimientos de ingeniería se introdujeron en los pronúcleos machos de embriones de ratón de célula única, y los embriones se colocaron en el útero de una madre subrogada para que se desarrollaran como animales transgénicos. Se ha generado descendencia en estas condiciones, y en algunos especímenes la adición de iones de cinc a su agua de bebida produce un incremento de la hormona de crecimiento hepática. En este caso, estos animales transgénicos han respondido a las cifras altas de hormona de crecimiento al hacerse dos veces más grandes que sus compañeros de camada normales. El ejemplo **(D)** ilustra que un elemento de respuesta a glucocorticoides (GRE) funcionará por medio de promotores homólogos (gen que codifica para PEPCK) o heterólogos (que no se muestran; esto es, tk) promotor, promotor SV40, promotor globina β, etc., para dirigir la expresión del gen reportero de acetiltransferasa de cloranfenicol (CAT).

CUADRO 38-2 Resumen de las propiedades de los potenciadores

- Funcionan cuando están localizados a grandes distancias desde el promotor
- Funcionan cuando están torrente arriba o torrente abajo desde el promotor
- Funcionan cuando están orientados en cualquier dirección
- Pueden funcionar con promotores homólogos o heterólogos
- Trabajan al unirse a una o más proteínas
- Trabajan al reclutar complejos correguladores modificadores de cromatina
- Trabajan al facilitar la unión del complejo de transcripción basal al promotor ligado a *cis*

intentar montar una respuesta antiviral (si no para salvarse, para ayudar a salvar a todo el organismo contra infección por virus). La producción de interferón es un mecanismo mediante el cual se logra esto; esta familia de proteínas se secreta por células infectadas por virus. El interferón secretado interactúa con las células vecinas para causar una inhibición de la replicación viral por diversos mecanismos, lo que limita la extensión de la infección por virus. El elemento potenciador que controla la inducción del gen que codifica para interferón β, que está localizado entre los nucleótidos −110 y −45, relativo a la transcripción del sitio de inicio (+1), se encuentra bien caracterizado; está compuesto de cuatro elementos *cis* agrupados, separados, cada uno de los cuales está unido por factores *trans* únicos. Un elemento *cis* es unido por el factor de acción *trans* NF-κB (figuras 42-10 y 42-13), uno por un miembro de la familia de factores *trans* IRF (factor regulador de interferón), y un tercero por el factor cremallera de leucina heterodimérico ATF-2/c-Jun (véase más adelante). El cuarto factor es el factor de transcripción estructural abundante y omnipresente conocido como HMG I(Y). En el momento de unión a sus sitios de unión degenerados, ricos en A+T, HMG I(Y) induce una flexión importante en el DNA. Hay cuatro de esos sitios de unión HMG I(Y) entremezclados en todo el potenciador. Estos sitios desempeñan una función crucial en la formación de una estructura tridimensional (3D) particular, junto con los tres factores *trans* mencionados, al inducir una serie de flexiones del DNA con espaciado crucial. En consecuencia, HMG I(Y) induce la formación cooperativa de una estructura 3D única, estereoespecífica, dentro de la cual los cuatro factores están activos cuando la célula detecta señales de infección viral: la estructura formada por el montaje cooperativo de estos cuatro factores se denomina el potenciosoma de interferón β (**figura 38-11**), así llamado debido a su obvia similitud estructural con el nucleosoma, también una estructura de proteína-DNA tridimensional singular que envuelve el DNA alrededor de un montaje de proteínas (figuras 35-1 y 35-2). El potenciosoma, una vez formado, induce un incremento grande de la transcripción de gen que codifica para interferón β en el momento de la infección por virus. No es sólo la ocupación por proteína de los sitios de elemento *cis* yuxtapuestos de manera lineal lo que induce la transcripción del gen que codifica para el interferón β; más bien, es la formación del potenciosoma propiamente dicho que proporciona superficies apropiadas para el reclutamiento de coactivadores lo que da por resultado la formación aumentada del PIC sobre el promotor *cis*-enlazado y, así, activación de la transcripción.

También se han identificado los elementos de acción *cis* que disminuyen o **reprimen** la expresión de genes específicos. Dado que se ha estudiado un menor número de estos elementos, es imposible formular generalizaciones acerca de su mecanismo de acción, aunque, de nuevo, al igual que para la activación de gen, han quedado comprendidas modificaciones covalentes en el ámbito de cromatina, de histonas y otras proteínas, por correpresores de múltiples subunidades reclutados por (represor).

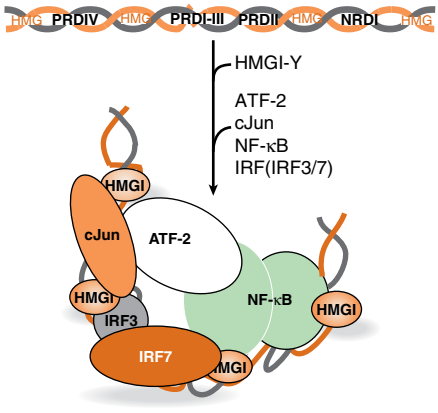


FIGURA 38-11 Formación de una estructura putativa del enhanceosoma formado en el aumentador del gen que codifica para interferón β humano. En la parte superior se representa esquemáticamente la distribución de los múltiples elementos *cis* (HMG, PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) que componen el aumentador del gen que codifica para interferón β. El aumentador intacto media la inducción transcripcional del gen que codifica para interferón β (*IFNB1*) más de 100 veces en el momento de infección viral de células humanas. Los elementos *cis* de este aumentador modular representan los sitios de unión para los factores *trans* HMG I(Y), cJun-ATF-2, IRF3-IRF7 y NF-κB, respectivamente. Los factores interactúan con estos elementos de DNA de una manera obligatoria, ordenada, y muy cooperativa, según lo indica la flecha. La unión inicial de cuatro proteínas HMG I(Y) induce flexiones agudas del DNA en el aumentador, lo que hace que toda la región de 70 a 80 bp adopte una curvatura pronunciada. Esta curvatura es esencial para la unión muy cooperativa subsiguiente de los otros factores *trans*, porque permite que los factores de unión a DNA hagan importantes interacciones directas entre una proteína y otra que contribuyen a la formación y estabilidad del enhanceosoma y generan una superficie 3D singular que sirve para reclutar correguladores modificadores de cromatina que portan actividades enzimáticas (p. ej., Swi/Snf: ATPasa, remodelador de cromatina y P/CAF: histona acetiltransferasa), así como la maquinaria de transcripción general (RNA polimerasa II y GTF). Aunque cuatro de los cinco elementos *cis* (PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) de manera independiente pueden estimular modestamente (~10 veces) la transcripción de un gen reportero en células que fueron objeto de transfección (figuras 38-10 y 38-12), se requieren los cinco elementos *cis*, en orden apropiado, para formar un aumentador que puede estimular de manera adecuada la transcripción de gen que codifica para mRNA (esto es, ≥ 100 veces) en respuesta a infección viral de una célula de humano. Esta distinción indica el estricto requerimiento de estructura de enhanceosoma apropiada para la activación *trans* eficiente. Se propone que en muchos otros genes de mamífero se forman enhanceosomas similares, que comprenden factores *cis* y *trans* separados y correguladores.

La expresión específica para tejido puede depender de la acción de potenciadores o represores o una combinación de ambos elementos regulatorios de acción *cis*

Ahora se reconoce que muchos genes albergan elementos potenciadores o activadores en diversas ubicaciones respecto a sus regiones de codificación. Además de tener la capacidad de potenciar la transcripción de gen, algunos de estos elementos potenciadores poseen con claridad la capacidad para hacerlo de una manera específica para tejido. Mediante fusionar potenciadores específicos para tejido conocidos o sospechados a genes reporteros (véase más adelante) y al introducir estas construcciones químericas de potenciador-reportero vía técnicas microquirúrgicas hacia embrión unicelular, es posible crear un animal transgénico (capítulo 39), y probar de manera rigurosa si un potenciador de prueba dado en realidad impulsa la expresión de una manera específica para célula o tejido. Este método de **animal transgénico** ha resultado útil para estudiar la expresión de gen específica para tejido.

Los genes reporteros se usan para definir elementos potenciadores y otros elementos reguladores

Al ligar regiones de DNA que se sospecha que albergan secuencias reguladoras a diversos genes reporteros (el **método del gen reportero** o **químérico**) (**figuras 38-10, 38-12** y **38-13**), es posible

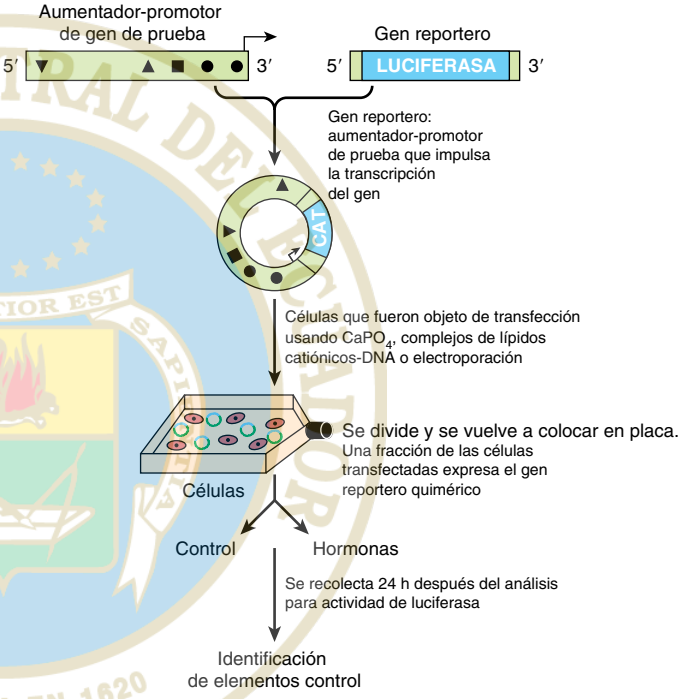


FIGURA 38-12 El uso de genes reporteros para definir elementos reguladores de DNA. Un fragmento de DNA que porta elementos *cis* reguladores (triángulos, cuadrado, círculos en el diagrama) que provienen del gen en cuestión (en este ejemplo, aproximadamente 2 kb de DNA 5′-flanqueantes y promotor cognado) es ligado hacia un vector plásmido que contiene un gen reportero idóneo (en este caso, la enzima luciferasa de luciérnaga, que se abrevia LUC). Como es evidente en la figura 38-10, el reportero no puede estar presente en las células que fueron objeto de transfección. En consecuencia, cualquier detección de estas actividades en un extracto celular significa que la transfección de la célula por el plásmido fue exitosa. No se muestra aquí, pero típicamente se efectúa cotransfección de un reportero adicional como luciferasa de Renilla para que sirva como un control de la eficiencia de la transfección. Las condiciones de análisis para las luciferasas de luciérnaga y de Renilla son diferentes, de ahí que las dos actividades se puedan analizar de manera secuencial usando el mismo extracto celular. Por ejemplo, un aumento de la actividad de la luciferasa de luciérnaga sobre la cifra basal después de la adición de una o más hormonas, significa que la región de DNA insertada en el plásmido del gen reportero contiene elementos de respuesta a hormona (HRE) funcionales. Se pueden construir fragmentos progresivamente más cortos de DNA, regiones con deleciones internas, o regiones con mutaciones puntuales, e insertarlos para señalar con precisión el elemento de respuesta (figura 38-13).

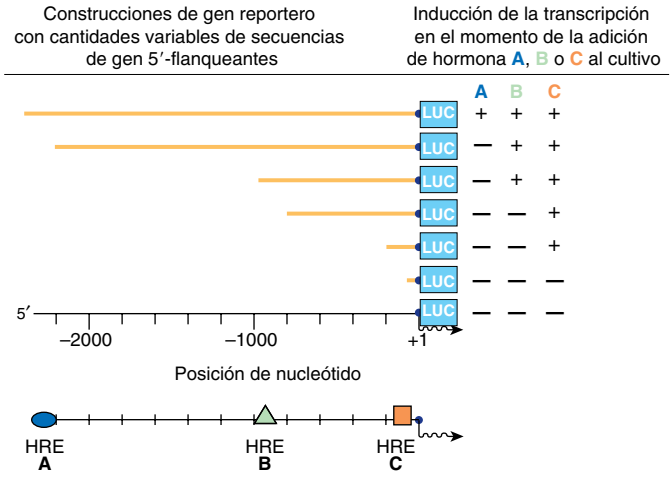


FIGURA 38-13 Mapeo de elementos de respuesta a hormona (HRE) (A), (B) Y (C) usando el método de transfección de gen reportero. Una familia de genes reporteros, construidos como se describe en las figuras 38-10 y 38-12, puede ser objeto de transfección hacia una célula receptora individualmente. Al analizar cuándo se pierden ciertas respuestas a hormona en comparación con el punto terminal de deleción de 5′, se pueden localizar y definir elementos aumentadores de respuesta a hormona específicos, incluso con un nivel de precisión de nucleótidos.

determinar cuáles regiones en la vecindad de genes estructurales tienen una influencia sobre su expresión. Fragmentos de DNA que se cree que albergan elementos reguladores se ligan a un gen reportero idóneo y se introducen a una célula huésped (figura 38-12). La expresión basal del gen reportero estará aumentada si el DNA contiene un potenciador. La adición de una hormona o un metal pesado al medio de cultivo aumentará la expresión del gen reportero si el DNA contiene un elemento de respuesta a hormona (HRE) o metal (MRE) (figura 38-13). La ubicación del elemento puede determinarse con precisión al usar pedazos progresivamente más cortos de DNA, deleciones o mutaciones puntuales (figura 38-13).

Esta estrategia, en la que típicamente **se usan células en cultivo que fueron objeto de transfección** (esto es, células inducidas para captar DNA exógenos), ha llevado a la identificación de cientos de potenciadores, represores, elementos específicos para tejido, y elementos de respuesta a hormona, metal pesado y fármaco. La actividad de un gen en cualquier momento refleja la interacción de estos muchos elementos de DNA de acción cis con sus respectivos factores de acción *trans*. El gasto transcripcional general está determinado por el balance de emisión de señales positivas y negativas hacia la maquinaria de transcripción. El desafío ahora es averiguar exactamente cómo se produce esta regulación en el ámbito molecular, de modo que finalmente sea posible tener la capacidad para modular la transcripción de gen en un contexto terapéutico.

Las combinaciones de elementos de DNA y proteínas relacionadas proporcionan diversidad en las respuestas

Los genes procarióticos a menudo están regulados de una manera de activación-desactivación en respuesta a indicios ambientales simples. Algunos genes eucarióticos están regulados de la manera de activación-desactivación simple, pero en casi todos los genes, especialmente en mamíferos, el proceso es mucho más complicado. Señales que representan diversos estímulos ambientales complejos pueden converger en un gen único. La respuesta del gen a estas señales puede tener varias características fisiológicas. En primer lugar, la respuesta puede extenderse en un rango considerable; esto se logra al tener respuestas positivas aditivas y sinérgicas contraequilibradas por efectos negativos o represores. En algunos casos, la respuesta positiva o la negativa puede ser dominante. También se requiere un mecanismo por medio del cual un efector, como una hormona, puede activar a algunos genes en una célula mientras que reprime a otros, y deja a otros más no afectados. Cuando todos estos procesos se acoplan con factores de elemento específicos para tejido, se proporciona considerable flexibilidad. Es obvio que estas variables fisiológicas requieren un ordenamiento mucho más complejo que un interruptor de activación-desactivación. La gama de elementos de DNA en un promotor especifica (con factores relacionados)de qué modo un gen dado mostrará respuesta, y durante cuánto tiempo se mantiene una respuesta particular. La **figura 38-14** ilustra algunos ejemplos simples.

Los dominios de transcripción pueden definirse por regiones de control de *locus* y por aisladores

El gran número de genes en las células eucarióticas, y las disposiciones complejas de factores reguladores de la transcripción, plantean un problema organizacional. ¿Por qué algunos genes están disponibles para transcripción en una célula dada,

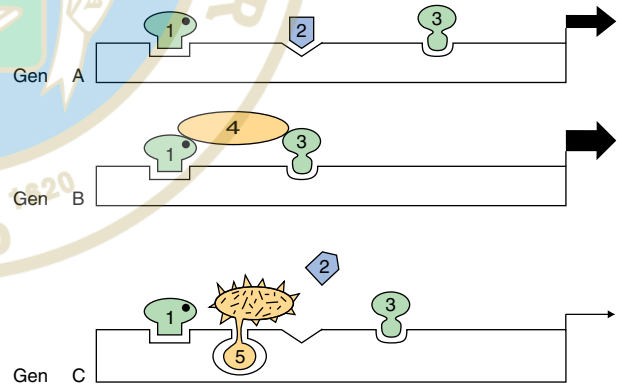


FIGURA 38-14 Combinaciones de elementos de DNA y proteína proporcionan diversidad en la respuesta de un gen. El gen A se activa (la anchura de la flecha indica la extensión) por la combinación de proteínas activadoras transcripcionales 1, 2 y 3 (probablemente con coactivadores, figura 36-10 y 38-11). La combinación de 1, 3 y 4 activa el gen B, en este caso con mayor eficacia; note que en este ejemplo el factor de transcripción 4 no entra en contacto directo con el DNA. Los activadores podrían formar un puente lineal que enlaza la maquinaria basal al promotor o, de manera alterna, esto podría lograrse al formar asas de DNA. En uno u otro caso, el propósito es dirigir la maquinaria de transcripción basal hacia el promotor. La combinación de factores de transcripción 1, 5 y 3 desactiva al gen C; en este caso, se muestra que el factor 5 impide la unión esencial del factor 2 al DNA, como ocurre en el ejemplo A. Si el activador 1 promueve la unión cooperadora del represor proteínico 5, y si la unión del activador 1 requiere un ligando (punto negro), puede observarse de qué modo el ligando podría activar un gen en una célula (gen A) y reprimir otro (gen C) en la misma célula.

mientras que otros no lo están? Si los potenciadores pueden regular varios genes desde distancias de decenas de kilobases, y no son dependientes de la posición ni de la orientación, ¿cómo se evita que desencadenen transcripción de todos los genes enlazados a *cis* en la vecindad? Se llega a parte de la solución a estos problemas al tener la cromatina dispuesta en unidades funcionales que restringen modelos de expresión de gen; esto puede lograrse al hacer que la cromatina forme una estructura con la matriz nuclear u otra entidad física, o compartimiento dentro del núcleo. De manera alternativa, algunas regiones están controladas por elementos de DNA complejos llamados **regiones de control de *locus* (LCR)**. Una LCR (con proteínas unidas relacionadas) controla la expresión de una agrupación de genes. La LCR mejor definida regula la expresión de la familia de genes que codifica para globina en una región grande de DNA. Los **aisladores** proporcionan otro mecanismo. Estos elementos de DNA, también en asociación con una o más proteínas, evitan que un potenciador actúe sobre un promotor en el otro lado de un aislador en otro dominio de transcripción. De este modo, los aisladores sirven como **elementos de frontera** transcripcionales.

VARIOS MOTIVOS COMPONEN LOS DOMINIOS DE UNIÓN DE DNA DE PROTEÍNAS DE FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN REGULADORAS

La especificidad comprendida en el control de la transcripción requiere que las proteínas reguladoras se unan con afinidad y especificidad altas a la región correcta de DNA. Tres motivos únicos (la **hélice-giro-hélice**, el **dedo de cinc** y la **cremallera de leucina**) explican muchas de estas interacciones específicas entre proteína y DNA. En el **cuadro 38-3** se presentan ejemplos de proteínas que contienen estos motivos.

CUADRO 38-3 Ejemplos de proteínas reguladoras de la transcripción que contienen los diversos motivos de unión

Motivo de unión	Organismo	Proteína reguladora
Hélice-giro-hélice	*E. coli*	Represor lac CAP
	Fago	λcI, cro, y triptófano y 434 represores
	Mamíferos	Proteínas de la homeosecuencia (homeocaja) Pit-1, Oct1, Oct2
Dedo de cinc	*E. coli*	Proteína del gen 32
	Levadura	Gal 4
	Drosophila	Serendipia, Jorobado
	Xenopus	TFIIIA
	Mamíferos	Familia de receptor de esteroide
		Sp1
Cremallera de leucina	Levadura	GCN4
	Mamíferos	C/EBP, fos, Jun, Fra-1, proteína de unión CRE, c-*myc*, n-*myc*, l-*myc*

La comparación de las actividades de unión de las proteínas que contienen estos motivos lleva a varias generalizaciones importantes.

1. La unión debe ser de alta afinidad al sitio específico, y de baja afinidad a otro DNA.
2. Regiones pequeñas de la proteína hacen contacto directo con el DNA; el resto de la proteína, además de proporcionar los dominios de activación *trans*, puede estar comprendida en la dimerización de monómeros de la proteína de unión, proporcionar una superficie de contacto para la formación de heterodímeros, proveer uno o más sitios de unión a ligando, o proporcionar superficies para interacción con coactivadores, correpresores o la maquinaria de transcripción.
3. Las interacciones entre proteína y DNA se mantienen mediante enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas, y fuerzas de Van der Waals.
4. Los motivos que se encuentran en estas proteínas son singulares; su presencia en una proteína de función desconocida sugiere que la proteína puede unirse al DNA.
5. Las proteínas con los motivos de hélice-giro-hélice o de cremallera de leucina forman dímeros, y sus sitios de unión a DNA respectivos son palíndromos simétricos. En proteínas con el motivo de dedo de cinc, el sitio de unión se repite dos a nueve veces. Estas características permiten que haya interacciones cooperativas entre sitios de unión, y aumentan el grado de unión y la afinidad de la misma.

El motivo hélice-giro-hélice

El primer motivo descrito fue la **hélice-giro-hélice**. El análisis de la estructura tridimensional (3D) del regulador de la transcripción Cro lambda ha revelado que cada monómero consta de tres hojas β antiparalelas y tres hélices α (**figura 38-15**). El dímero se forma mediante asociación de las hojas β_3 antiparalelas. Las hélices α_3 forman la superficie de reconocimiento de DNA, y el resto de la molécula parece estar involucrada en la estabilización de estas estructuras. El diámetro promedio de una hélice α es de 1.2 nm, que es la anchura aproximada del surco mayor en la forma B del DNA.

El dominio de reconocimiento de DNA de cada monómero Cro interactúa con 5 bp, y los sitios de unión a dímero abarcan 3.4 nm, lo que permite que se adapten en medios giros sucesivos del surco mayor en la misma superficie (figura 38-15). Análisis con rayos X del represor cI λ, CAP (la proteína receptora de cAMP de *E. coli*), represor de triptófano, y represor del fago 434, también despliegan esta estructura de hélice-giro-hélice dimérica que asimismo está presente en proteínas de unión a DNA eucarióticas (cuadro 38-3).

El motivo dedo de cinc

El **dedo de cinc** fue el segundo motivo de unión a DNA cuya estructura atómica se elucidó. Se supo que la actividad de la proteína TFIIIA, un regulador positivo de la transcripción del gen que codifica para RNA 5S, requería cinc. Análisis estructurales y biofísicos revelaron que cada molécula de TFIIIA contiene nueve iones de cinc en un complejo de coordinación repetitivo formado por residuos cisteína-cisteína estrechamente espaciados, seguidos por 12 a 13 aminoácidos más tarde por un par

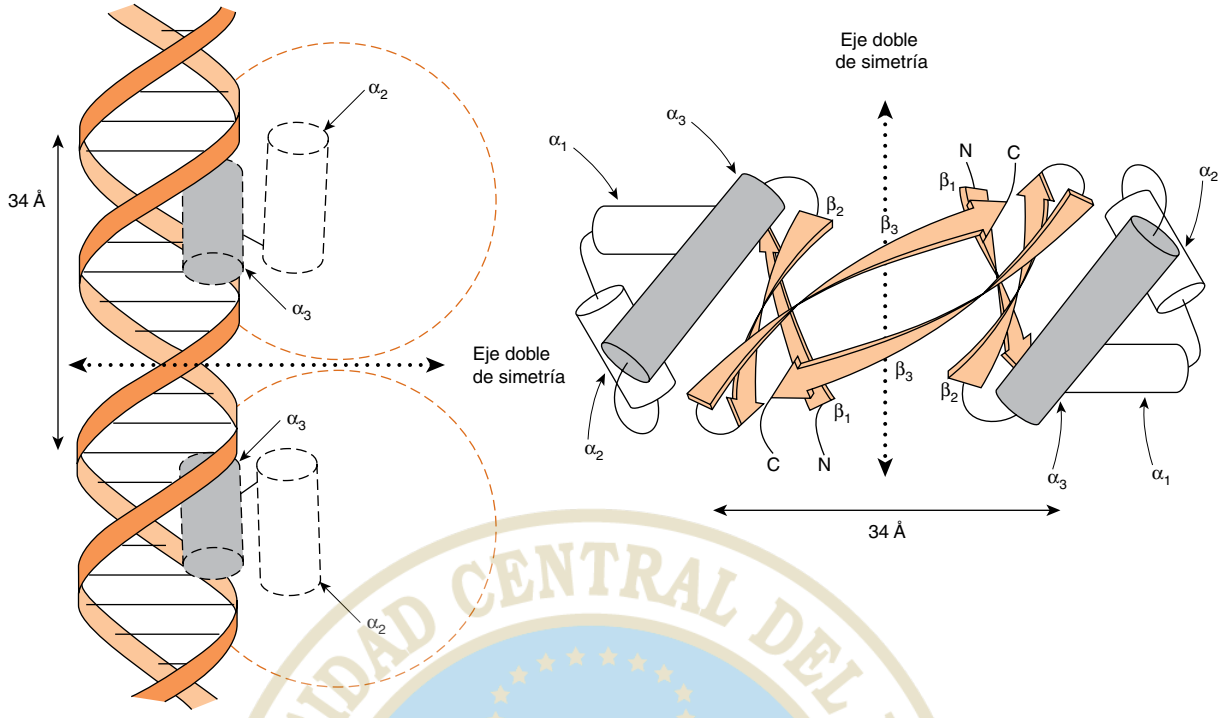


FIGURA 38-15 Representación esquemática de la estructura 3D de la proteína Cro y su unión al DNA mediante su motivo de hélice-giro-hélice (izquierda). El monómero Cro consta de tres hojas β (β_1 a β_3) y tres hélices α (α_1 a α_3), antiparalelas. El motivo hélice-giro-hélice se forma porque las hélices α_3 y α_2 se mantienen a alrededor de 90 grados entre sí mediante un giro de cuatro aminoácidos. La hélice α_3 de Cro es la superficie de reconocimiento de DNA **(sombreada)**. Dos monómeros se relacionan por medio de las hojas β_3 antiparalelas para formar un dímero que tiene un eje de simetría doble **(derecha)**. Un dímero Cro se une al DNA por medio de sus hélices α_3, cada una de las cuales entra en contacto con alrededor de 5 bp en la misma superficie del surco mayor (figuras 34-2 y 38-6). La distancia entre puntos comparables en las dos hélices α del DNA es de 34 Å, que es la distancia requerida para un giro completo de la doble hélice. (Reproducido con permiso de B Mathews).

de histidina-histidina (**figura 38-16**). En algunas circunstancias (entre las que destaca la familia de receptor de hormona nuclear esteroide-tiroidea) el doblete His-His es reemplazado por un segundo par Cis-Cis. La proteína que contiene dedos de cinc parece yacer sobre una cara de la hélice de DNA, con dedos sucesivos ubicados de manera alternativa en un giro del surco mayor. Como sucede con el dominio de reconocimiento en la proteína de hélice-giro-hélice, cada dedo de cinc TFIIIA entra en contacto con alrededor de 5 bp de DNA. La importancia de este motivo en la acción de hormonas esteroides es subrayada por un "experimento de la Naturaleza". Una mutación de aminoácido único en uno u otro de los dos dedos de cinc de la proteína receptora de 1,25 $(OH)_2$-D_3 da por resultado resistencia a la acción de esta hormona, y el síndrome clínico de raquitismo.

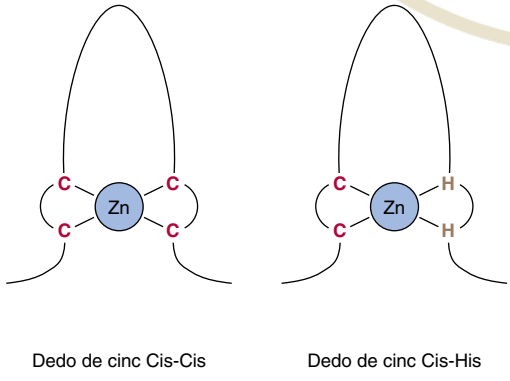


FIGURA 38-16 Los dedos de cinc son una serie de dominios repetidos (2 a 9) en los cuales cada uno está centrado en una coordinación tetraédrica con cinc. En el caso del factor de transcripción de unión de DNA TFIIIA, la coordinación es proporcionada por un par de residuos cisteína (C) separados por 12 a 13 aminoácidos de un par de residuos histidina (H). En otras proteínas dedo de cinc, el segundo par también consta de residuos C. Los dedos de cinc se unen en el surco mayor; dedos adyacentes hacen contacto con 5 bp a lo largo de la misma cara de la hélice.

El motivo cremallera de leucina

El análisis cuidadoso de una secuencia de 30 aminoácidos en la región carboxilo terminal de la proteína de unión potenciadora C/EBP reveló una estructura nueva, **el motivo cremallera de leucina.** Esta región de la proteína forma una hélice α en la cual hay una repetición periódica de residuos leucina en cada séptima posición (**figura 38-17**); esto ocurre para ocho giros de hélice y cuatro repeticiones de leucina. Se han encontrado estructuras similares en varias otras proteínas relacionadas con la regulación de la transcripción en células de mamífero y de levadura. Esta estructura permite que dos monómeros idénticos o no idénticos (p. ej., Jun-Jun o Fos-Jun) se "unan con cremallera" en una espiral enrollada y que formen un complejo dimérico estrecho (figura 38-17). Esta interacción entre una proteína y otra puede servir para aumentar la asociación de los DBD separados, con su blanco (figura 38-17).

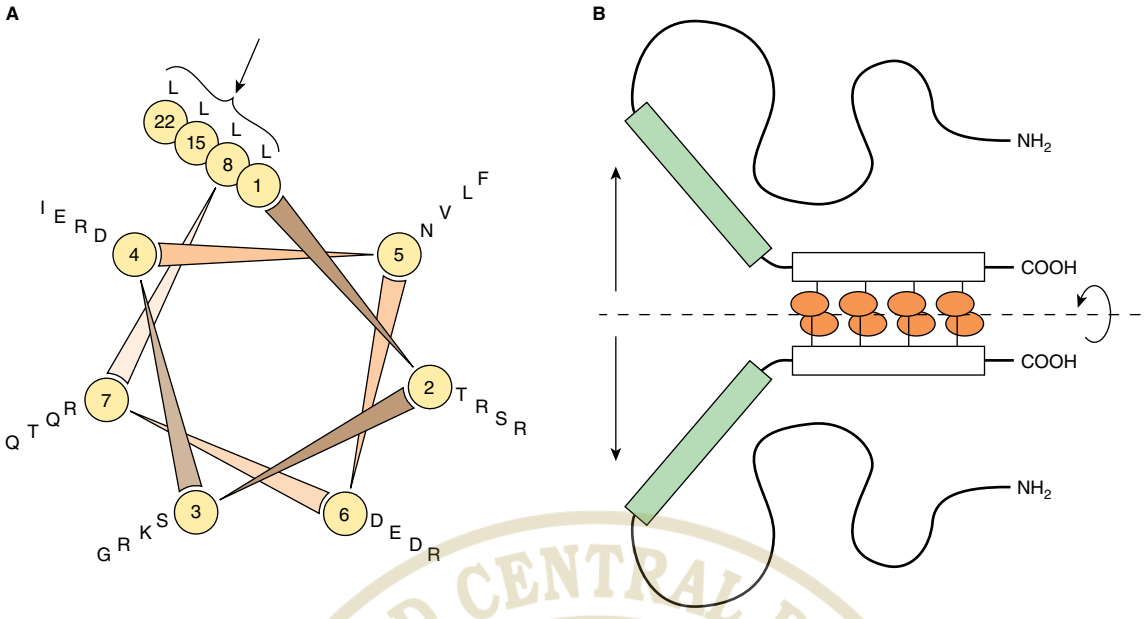


FIGURA 38-17 **El motivo de cremallera de leucina. (A)** Muestra un análisis de rueda helicoidal de una porción carboxilo terminal de la proteína de unión a DNA C/EBP (cuadro 36-3). La secuencia de aminoácido se despliega terminal a terminal por el eje de una hélice α esquemática. La rueda helicoidal consta de siete rayos que corresponden a los siete aminoácidos que comprenden cada dos vueltas de la hélice α. Note que los residuos leucina (L) ocurren en cada séptima posición (en esta C/EBP esquemática residuos aminoácido 1, 8, 15, 22; véase la flecha). Otras proteínas con "cremalleras de leucina" tienen un modelo en rueda helicoidal similar. **(B)** Es un modelo esquemático del dominio de unión a DNA de C/EBP. Dos cadenas polipeptídicas C/EBP idénticas se mantienen en formación de dímero por el dominio de cremallera de leucina de cada polipéptido (denotado por los rectángulos y por los óvalos adosados). Esta asociación se requiere para mantener los dominios de unión a DNA de cada polipéptido (los rectángulos sombreados) en la conformación apropiada para unión a DNA. (Reimpreso con permiso de S McKnight).

LOS DOMINIOS DE UNIÓN Y TRANSACTIVACIÓN DE DNA DE CASI TODAS LAS PROTEÍNAS REGULADORAS ESTÁN SEPARADOS

La unión de DNA podría dar por resultado un cambio conformacional general que permite que la proteína unida active la transcripción, o estas dos funciones podrían ser desempeñadas por dominios independientes y separados. Experimentos de intercambio de dominio sugieren que típicamente sucede esto último.

El producto de gen *GAL1* participa en el metabolismo de la galactosa en levaduras. La transcripción de este gen está regulada de manera positiva por la proteína GAL4, que se une a una secuencia activadora torrente arriba (UAS), o potenciador, por medio de un dominio amino terminal. El dominio de unión a DNA (DBD) de 73 aminoácidos amino terminal de GAL4 se eliminó y fue reemplazado por el DBD de LexA, una proteína de unión a DNA de *E. coli*. Este intercambio de dominio dio por resultado una molécula que no se unió al UAS *GAL1* y, por supuesto, no activó al gen *GAL1* (**figura 38-18**). Sin embargo, si el operador *lexA* (la secuencia de DNA que normalmente es unida por el *lexA*DBD) se insertó en la región promotora del gen *GAL*, lo que reemplazó el potenciador *GAL1* normal, la proteína híbrida se unió a este promotor (en el operador *lexA*) y activó la transcripción de *GAL1*. Este experimento, que se ha repetido varias veces, proporciona evidencia sólida de que la región carboxilo terminal de GAL4 contiene un dominio de activación transcripcional; estos datos también demuestran que el DBD y los dominios de transactivación (AD) son independientes. La jerarquía comprendida en el mon-

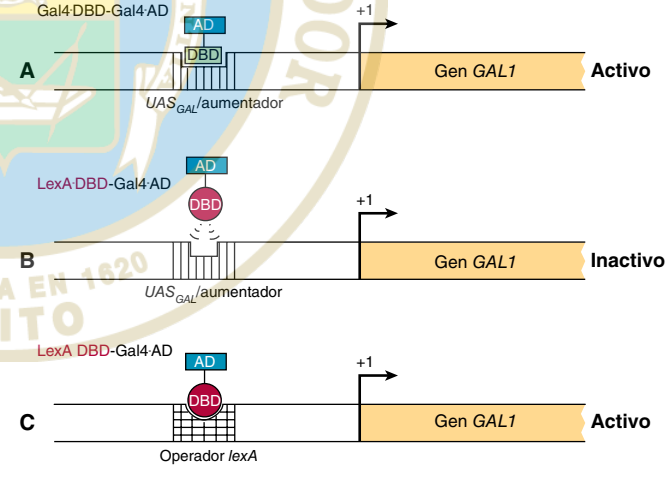


FIGURA 38-18 **Experimentos de cambio de dominio demuestran la naturaleza independiente de los dominios de unión a DNA y de activación de la transcripción.** El promotor del gen *GAL1* contiene una secuencia activadora torrente arriba (UAS) o aumentador que es unido por el factor de transcripción regulador GAL4 **(A)**. GAL4, al igual que la proteína cI lambda, es modular, y contiene un DBD N terminal y un dominio de activación C terminal, o AD. Cuando el factor de transcripción GAL4 se une al aumentador *GAL1*/UAS, surge activación de la transcripción del gen *GAL1* (Activo). Una proteína quimérica, en la cual el dominio de unión a DNA (DBD) amino terminal de GAL4 es eliminado y reemplazado con el DBD de la proteína LexA de *E. coli*, la proteína quimérica resultante LexA DBD-GAL4 AD no estimula la transcripción de *GAL1* porque el DBD de LexA no puede unirse al aumentador GAL1/UAS **(B)**. En contraste, la proteína de fusión DBD de LexA-GAL4 AD incrementa la transcripción de *GAL1* cuando el operador *lexA* (el blanco natural para el DBD de LexA) es insertado en la región promotora *GAL1* **(C)** y reemplaza la UAS *GAL1*.

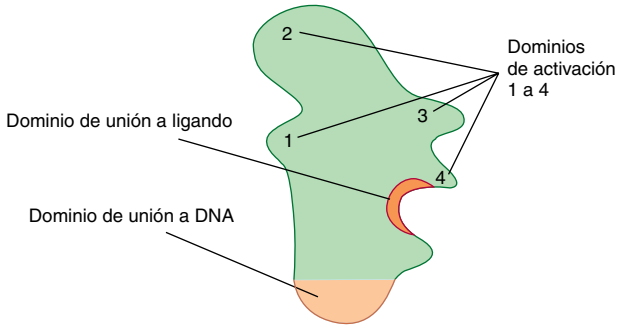


FIGURA 38-19 Las proteínas que regulan la transcripción tienen varios dominios. Este factor de transcripción hipotético tiene un dominio de unión a DNA (DBD) que es distinto de un dominio de unión a ligando (LBD) y varios dominios de activación (AD) (1 a 4). Otras proteínas pueden carecer del DBD o del LBD y todas pueden tener números variables de dominios que entran en contacto con otras proteínas, incluso correguladores y los del complejo de transcripción basal (capítulos 41 y 42).

CUADRO 38-4 La expresión de gen está regulada por la transcripción y de muchas otras maneras en el ámbito del RNA en células eucarióticas

- Amplificación de gen
- Reordenamiento de gen
- Procesamiento de RNA
- Empalme de mRNA alternado
- Transporte de mRNA desde el núcleo hacia el citoplasma
- Regulación de la estabilidad del mRNA
- Compartimentación
- Silenciamiento y activación de miRNA/ncRNA

taje de complejos activadores de la transcripción de gen incluye proteínas que se unen al DNA y lo transactivan; otras que forman complejos proteína-proteína que forman puentes con proteínas de unión a DNA para transactivar proteínas, y otras que forman complejos proteína-proteína con componentes de correguladores o el aparato de transcripción basal. De esta manera, una proteína dada puede tener varias superficies modulares o dominios que desempeñan diferentes funciones (**figura 38-19**). (No se muestran aquí, pero las proteínas represoras de unión a DNA están organizadas de manera similar con dominios DBD y silenciador separables). El propósito primario de estos montajes de complejo es facilitar el montaje, o la actividad, o ambos, del aparato de transcripción basal en el promotor *cis*-enlazado (capítulo 36).

LA REGULACIÓN DE GEN EN PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS DIFIERE EN ASPECTOS IMPORTANTES

Además de la transcripción, las células eucarióticas emplean diversos mecanismos para regular la expresión de gen (**cuadro 38-4**). Participan muchos más pasos en la expresión de genes eucarióticos, especialmente en el procesamiento del RNA, que en la de genes procarióticos, y tales etapas proporcionan sitios adicionales para influencias reguladoras que no pueden existir en procariotas. Estos pasos de procesamiento del RNA en eucariotas, descrito en detalle en el capítulo 36, comprenden cubierta de los extremos 5′ de las transcripciones primarias, adición de una cola de poliadenilato a los extremos 3′ de transcripciones, y escisión de regiones intrón para generar exones empalmados en la molécula de mRNA maduro. Hasta la fecha, los análisis de expresión de gen eucariótico proporcionan evidencia de que ocurre regulación en el ámbito de la **transcripción, el procesamiento de RNA nuclear, la estabilidad de mRNA, y la traducción**. Además, **la amplificación y el reordenamiento de gen influyen sobre la expresión de gen**.

Debido al advenimiento de la tecnología de DNA recombinante y a la secuenciación de DNA y RNA de alto rendimiento (capítulo 39), en los años recientes se ha hecho mucho progreso en el entendimiento de la expresión de gen eucarionte. Sin embargo, dado que la mayor parte de los organismos eucarióticos contiene mucho más información genética que los procariotas, y puesto que la manipulación de sus genes es mucho más difícil, los aspectos moleculares de la regulación de gen eucariótico se entienden menos bien que los ejemplos que se comentaron antes en este capítulo. En esta sección se describen de manera breve algunos tipos diferentes de regulación de gen eucariótico.

Los ncRNA modulan la expresión de gen al alterar la función del mRNA

Como se resalta en el capítulo 35, la clase de RNA no codificantes eucariontes omnipresentes recién descubierta, denominada mi/siRNA e lncRNA contribuye de manera importante al control de la expresión de gen. El mecanismo de acción del miRNA y del siRNA se entiende mejor. Estos RNA de ~ 22 nucleótidos regulan la función/expresión de mRNA específicos al inhibir la traducción o inducir degradación de mRNA por medio de diferentes mecanismos; en muy pocos casos se ha mostrado que los miRNA simulan la función del mRNA. Se cree que al menos una parte de la modulación de la actividad de mRNA impulsada por miRNA ocurre en el **cuerpo P** (figura 37-11). La acción de miRNA puede dar por resultado cambios notorios de la producción de proteína y, por ende, de la expresión de gen. Esos pequeños miRNA han quedado implicados en muchas enfermedades de humanos, como enfermedad del corazón, cáncer, emaciación muscular, infección viral y diabetes.

Los miRNA y siRNA, al igual que los factores de transcripción de unión a DNA descritos con detalle antes, tienen actividad *trans,* y una vez sintetizados y procesados de manera apropiada, interactúan con proteínas específicas y se unen a mRNA blanco (figura 36-17). La unión de miRNA a blancos de mRNA está dirigida por reglas de formación de pares de bases normales. En general, si la formación de par de base de miRNA-mRNA tiene uno o más errores de emparejamiento, la traducción del mRNA "blanco" cognado se inhibe, mientras que si la formación de pares de base de miRNA-mRNA es perfecta en los 22 nucleótidos, el mRNA correspondiente se degrada.

Dada la enorme y siempre creciente importancia de los miRNA, muchos científicos y compañías de biotecnología estudian de manera activa la biogénesis, el transporte y la función de miRNA con la esperanza de curar enfermedades en humanos. El

tiempo dirá la magnitud y universalidad de la regulación de gen mediada por miRNA.

Los genes eucarióticos se pueden amplificar o reordenar durante el desarrollo o en respuesta a fármacos

Durante el desarrollo temprano de metazoarios, hay un aumento repentino de la necesidad de moléculas específicas, como moléculas de RNA ribosómico y RNA mensajero para proteínas que constituyen tipos de tejido o celulares específicos. Una manera de aumentar el índice al cual pueden formarse esas moléculas es incrementar el número de genes disponibles para la transcripción de estas moléculas específicas. Entre las secuencias de DNA repetitivas dentro del genoma figuran cientos de copias de genes que codifican para RNA ribosómico. Estos genes preexisten de manera repetitiva en el DNA de los gametos y, así, se transmiten en altos números de copias de una generación a otra. En algunos organismos específicos, como la mosca de la fruta (*Drosophila*), ocurre durante la oogénesis una amplificación de algunos genes preexistentes como los que codifican para las proteínas del corion (cascarón de huevo). Después, estos genes amplificados, probablemente generados por un proceso de inicios repetidos durante la síntesis de DNA, proporcionan múltiples sitios para la transcripción de gen (**figuras 36-4** y **38-20**). El lado oscuro de la amplificación de gen específico es el hecho de que en células humanas puede aparecer resistencia a fármacos luego de tratamiento terapéutico prolongado debido a la amplificación y expresión aumentada de genes que codifican para proteínas que degradan, o bombean, fármacos para células blanco.

Como se explica en el capítulo 36, las secuencias codificadoras de las cuales depende la generación de moléculas de proteína específicas, a menudo son no contiguas en el genoma de mamífero. En el caso de genes que codifican para anticuerpo, esto es particularmente cierto. Como se describe a detalle en el capítulo 52, las inmunoglobulinas están compuestas de dos polipéptidos, las llamadas cadena pesada (de alrededor de 50 kDa) y ligera (de unos 25 kDa). Los mRNA que codifican para estas dos subunidades proteínicas están codificados por secuencias de gen sujetas a extensos cambios de codificación de la secuencia de DNA. Estos cambios de codificación de DNA son esenciales para generar la diversidad de reconocimiento indispensable fundamental para la función inmunitaria apropiada.

Los mRNA que codifican para cadenas pesada y ligera de IgG son codificados por varios segmentos diferentes que se repiten en tándem en la línea germinal. Así, por ejemplo, la cadena ligera de IgG está compuesta de dominios o segmentos variable (V_L), de unión (J_L) y constante (C_L). Para subgrupos particulares de cadenas ligeras de IgG, hay aproximadamente 300 segmentos codificadores de gen V_L repetidos en tándem, cinco secuencias codificadoras J_L dispuestas en tándem, y alrededor de 10 segmentos codificadores de gen C_L. Todas estas regiones codificadoras múltiples, separadas, están ubicadas en la misma región del mismo cromosoma, y cada tipo de segmento codificador (V_L, J_L y C_L) se repite en tándem de manera cabeza a cola dentro de la región de repetición de segmento. Al tener múltiples segmentos V_L, J_L y C_L a partir de los cuales elegir, una célula inmunitaria tiene un repertorio mayor de secuencias con las cuales trabajar para desarrollar tanto flexibilidad como especificidad inmunitaria. Sin embargo, una unidad de transcripción de cadena ligera de IgG funcional dada (al igual que todas las otras unidades de transcripción de mamífero "normales") sólo contiene las secuencias codificadoras para una proteína única. De este modo, antes de que pueda expresarse una cadena ligera de IgG particular, deben recombinarse secuencias codificadoras V_L, J_L y C_L *únicas* para generar una unidad de transcripción contigua, *única,* con exclusión de los múltiples segmentos no utilizados (esto es, los otros alrededor de 300 segmentos V_L, los otros cuatro segmentos J_L, y los otros nueve segmentos C_L, no usados). Esta deleción de información genética no usada se logra mediante recombinación de DNA selectiva que elimina el DNA codificador no deseado, mientras que retiene las secuencias codificadoras requeridas: una secuencia V_L, una J_L, y una C_L. (Las secuencias V_L están sujetas a mutagénesis puntual adicional para generar aún más variabilidad —de ahí el nombre—). De esta manera, las secuencias recién recombinadas forman una unidad de transcripción única que es competente para la transcripción mediada por RNA polimerasa II hacia un mRNA monocistrónico único. Si bien los genes IgG representan uno de los casos mejor estudiados de reordenamiento de DNA dirigido que modula la expresión genética, en la literatura médica se han descrito otros casos de reordenamiento de DNA regulador de gen.

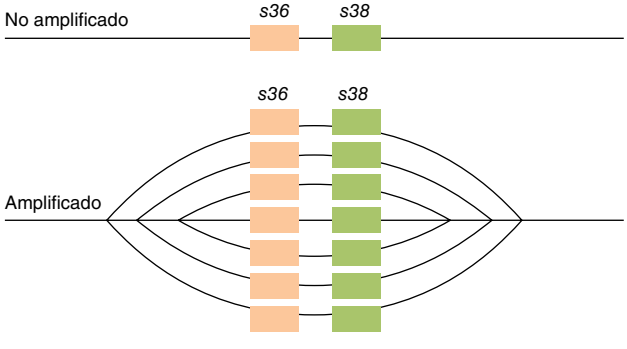


FIGURA 38-20 Representación esquemática de la amplificación de los genes que codifican para proteína del corion, *s36* y *s38*. (Reproducido, con autorización, de Chisholm R: Gene amplification during development. Trends Biochem Sci 1982;7:161. Copyright ©1982. Reimpreso con autorización de Elsevier).

El procesamiento de RNA alternativo es otro mecanismo de control

Además de afectar la eficiencia de la utilización de promotor, las células eucarióticas emplean procesamiento de RNA alternativo para controlar la expresión de gen. Esto puede ocurrir cuando se usan promotores, sitios de empalme de intrón-exón, o sitios de poliadenilación, alternativos. En ocasiones sobreviene heterogeneidad dentro de una célula, pero con mayor frecuencia la misma transcripción primaria se procesa de manera diferente en distintos tejidos. A continuación se presentan algunos ejemplos de cada uno de estos tipos de regulación.

El uso de **sitios de inicio de la transcripción alternativos** origina un exón 5′ diferente en mRNA que codifica para amilasa y cadena ligera de miosina de ratón, glucocinasa de rata, y alcohol deshidrogenasa y actina de *Drosophila*. Los **sitios de polia-**

denilación alternativos en la transcripción primaria de cadena pesada de inmunoglobulina μ dan por resultado mRNA que tienen 2 700 bases (μ_m) o 2 400 bases (μ_s) de largo. Esto produce una región carboxilo terminal diferente de las proteínas codificadas, de modo que la proteína μ_m permanece fija a la membrana del linfocito B, y la inmunoglobulina μ_s se secreta. El **empalme y procesamiento alternativos** dan por resultado la formación de siete mRNA que codifican para α-tropomiosina únicos en siete tejidos diferentes. No está claro de qué modo se toman estas decisiones de procesamiento-empalme o si estos pasos se pueden regular.

La regulación de la estabilidad de RNA mensajero proporciona otro mecanismo de control

Aunque casi todos los mRNA en células de mamífero son muy estables (vida media que se mide en horas), algunos se recambian con mucha rapidez (vida media de 10 a 30 minutos). En ciertas circunstancias, la estabilidad del mRNA se encuentra sujeta a regulación, lo cual tiene inferencias importantes puesto que por lo general hay una relación directa entre la cantidad de mRNA y la traducción de ese mRNA hacia su proteína cognada. Por ende, los cambios de la estabilidad de un mRNA específico pueden tener efectos importantes sobre procesos biológicos.

Los RNA mensajeros existen en el citoplasma como **partículas de ribonucleoproteína** (**RNP**). Algunas de estas proteínas protegen al mRNA contra digestión por nucleasas, mientras que otras, en ciertas condiciones, pueden promover el ataque por nucleasa. Se cree que los mRNA se estabilizan o desestabilizan por la interacción de proteínas con estas diversas estructuras o secuencias. Ciertos efectores, como las hormonas, pueden regular la estabilidad del mRNA al aumentar o disminuir la cantidad de estas proteínas.

Parece ser que los extremos de moléculas de mRNA participan en la estabilidad del mRNA **(figura 38-21)**. La estructura de cubierta 5′ en el mRNA eucariótico evita ataque por 5′ exonucleasas, y la cola poli(A) impide la acción de 3′ exonucleasas. En moléculas de mRNA que tienen esas estructuras, se cree que un corte endonucleolítico único permite que las exonucleasas ataquen y digieran toda la molécula. Se cree que otras estructuras (secuencias) en la región 5′ no traducida (UTR 5′), la región codificadora, y el UTR 3′ favorecen o impiden esta acción endonucleolítica inicial (figura 38-21). A continuación se citan algunos ejemplos ilustrativos.

La deleción del UTR 5′ da por resultado una prolongación de tres a cinco veces la vida media del mRNA *c-myc*. El acortamiento de la región del mRNA que codifica para histona da por resultado una vida media prolongada. Una forma de autorregulación de la estabilidad del mRNA involucra de manera indirecta la región codificadora. La tubulina libre se une a los primeros cuatro aminoácidos de una cadena naciente de tubulina a medida que surge desde el ribosoma. Esto parece activar a una RNasa relacionada con el ribosoma, que después digiere el mRNA que codifica para tubulina.

Las estructuras en el extremo 3′, incluso la cola poli(A), aumentan o disminuyen la estabilidad de mRNA específicos. La ausencia de una cola poli(A) se relaciona con degradación rápida de mRNA y la eliminación de poli(A) desde algunos RNA suscita su desestabilización. Los mRNA que codifican para histona carecen de una cola poli(A) pero tienen una secuencia cerca de la terminal 3′ que puede formar una estructura en forma de tallo-asa, y esto parece proporcionar resistencia al ataque exonucleolítico. El mRNA que codifica para histona H4, por ejemplo, se degrada en la dirección 3′ a 5′, pero sólo después de que ocurre un corte endonucleolítico único a unos nueve nucleótidos del extremo 3′ en la región de la estructura de tallo-asa putativa. Las estructuras de tallo-asa en la secuencia no codificadora 3′ también son cruciales para la regulación, por hierro, del mRNA que codifica para el receptor de transferrina. Las estructuras en tallo-asa también se relacionan con la estabilidad del mRNA en bacterias, lo que sugiere que este mecanismo quizá sea común.

Otras secuencias en los extremos 3′ de ciertos mRNA eucarióticos parecen estar involucradas en la desestabilización de estas moléculas. Como se comentó, parte de esto está mediado por la acción de miRNA específicos. Además, despiertan particular interés las regiones ricas en AU, muchas de las cuales contienen la secuencia AUUUA. Esta secuencia aparece en mRNA que tienen vida media muy breve, entre ellos algunos que codifican para proteínas oncogén y citocinas. La importancia de esta región es subrayada por un experimento en el cual una secuencia

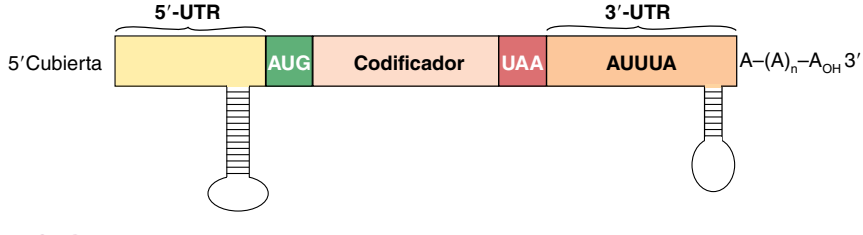


FIGURA 38-21 Estructura de un mRNA eucarionte típico que muestra elementos que están involucrados en la regulación de la estabilidad del mRNA. El mRNA eucarionte típico tiene una secuencia no codificadora (NCS), o región no traducida 5′ (5′ UTR), una región codificadora y una región no traducida 3′ (3′ UTR). En esencia todos los mRNA están cubiertos en el extremo 5′ y casi todos tienen una secuencia poliadenilato, de 100 a 200 nucleótidos de largo en su extremo 3′. La cubierta 5′ y la cola 3′ poli(A) protegen el mRNA contra ataque por exonucleasa, y son unidos por proteínas específicas que interactúan para facilitar la traducción (figura 37-7). Se cree que las estructuras de tallo-asa en la NCS 5′ y 3′ y la región rica en AU en la NCS 3′ representan los sitios de unión para proteínas específicas que modulan la estabilidad del mRNA.

que corresponde al UTR 3′ del mRNA que codifica para el factor estimulante de colonia (CSF) de vida breve, que contiene un motivo AUUUA, se añadió al extremo 3′ del mRNA que codifica para la globina β. En lugar de hacerse muy estable, este mRNA que codifica para globina β híbrido ahora tuvo la vida media breve característica del mRNA que codifica para el CSF. Gran parte de este metabolismo del mRNA quizá ocurre en los cuerpos P citoplásmicos.

A partir de los ejemplos citados, está claro que se usan varios mecanismos para regular la estabilidad y, por ende, la función, del mRNA, del mismo modo que se emplean varios mecanismos para regular la síntesis de mRNA. La regulación coordinada de estos dos procesos confiere notoria adaptabilidad a la célula.

RESUMEN

- Casi todas las constituciones genéticas de células somáticas de metazoario son idénticas.
- El fenotipo (especificidad de tejido o célula) está dictado por diferencias de la expresión de gen de la totalidad de estos genes.
- Las alteraciones de la expresión de gen permiten a una célula adaptarse a cambios ambientales, indicios vinculados con el desarrollo y señales fisiológicas.
- La expresión de gen puede controlarse en múltiples niveles por cambios en la transcripción, el procesamiento de RNA, la ubicación, y la estabilidad o utilización. La amplificación y los reordenamientos de gen también influyen sobre la expresión de gen.
- Los controles de la transcripción operan en el ámbito de interacciones entre proteína y DNA, y entre una proteína y otra. Estas interacciones despliegan modularidad y especificidad alta de dominio de proteína.
- En factores de transcripción se han identificado varias clases diferentes de dominios de unión a DNA.
- Las modificaciones de cromatina y DNA contribuyen de manera importante en el control de la transcripción eucariótica al modular la accesibilidad al DNA y especificar el reclutamiento de coactivadores y correpresores específicos hacia genes blanco.
- Se han descrito varios mecanismos epigenéticos para el control de gen, y los mecanismos moleculares mediante los cuales operan estos procesos están empezando a elucidarse en el ámbito molecular.
- miRNA y siRNA modulan la traducción y la estabilidad del mRNA; estos mecanismos complementan controles de la transcripción para regular la expresión de gen.

REFERENCIAS

Bonasio R, Tu S, Reinberg D: Molecular signals of epigenetic states. Science 2010;330:612-616.

Elkon R, Ugalde AP, Agami R: Alternative cleavage and polyadenylation: extent, regulation and function. Nat Rev Genet 2013;14:496-506.

Geisler S, Coller J: RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. Nat Rev Mol Cell Biol 2013;14:699-712.

Hsin JP, Manley JL: The RNA polymerase II CTD coordinates transcription and RNA processing. Genes Dev 2012;26:2119-2137.

Ishihama A: Prokaryotic genome regulation: a revolutionary paradigm. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2012;88:485-508.

Jacob F, Monod J: Genetic regulatory mechanisms in protein synthesis. J Mol Biol 1961;3:318-356.

Klug A: The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. Annu Rev Biochem 2010;79:213-231.

Kornblihtt AR, Schor IE, Alló M, Dujardin G, Petrillo E, Muñoz MJ: Alternative splicing: a pivotal step between eukaryotic transcription and translation. Nat Rev Mol Cell Biol 2013;14:153-165.

Lemon B, Tjian R: Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control. Genes Dev 2000;14:2551-2569.

Margueron R, Reinberg D: The polycomb complex PRC2 and its mark in life. Nature 2011;469:343-349.

Nabel CS, Kohli RM: Demystifying DNA demethylation. Science 2011;333:1229-1230.

Ørom UA, Shiekhattar R: Long noncoding RNAs usher in a new era in the biology of enhancers. Cell 2013;154:1190-1193.

Pawlicki JM, Steitz JA: Nuclear networking fashions pre-messenger RNA and primary microRNA transcripts for function. Trends Cell Biol 2010;20:52-61.

Ptashne M: *A Genetic Switch,* 2nd ed. Cell Press and Blackwell Scientific Publications, 1992.

Pugh BF: A preoccupied position on nucleosomes. Nat Struct Mol Biol 2010;17:923.

Roeder RG: Transcriptional regulation and the role of diverse coactivators in animal cells. FEBS Lett 2005;579:909-915.

Schleif RF: Modulation of DNA binding by gene-specific transcription factors. Biochemistry 2013:52:6755-6765.

Small EM, Olson EN: Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. Nature 2011;469:336-342.

Weingarten-Gabbay S, Segal E: The grammar of transcriptional regulation. Human Genetics 2014;133:701-711.

Zhang Z, Pugh BF: High-resolution genome-wide mapping of the primary structure of chromatin. Cell 2011;144:175-186.

CAPÍTULO 39

Genética molecular, DNA recombinante y tecnología genómica

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar los procedimientos y métodos básicos involucrados en la tecnología de DNA recombinante y la ingeniería genética.
- Apreciar la lógica que está detrás de los métodos que se usan para sintetizar DNA y RNA, analizarlos y secuenciarlos.
- Explicar cómo identificar proteínas individuales y cuantificarlas, tanto solubles como insolubles (esto es, unidas a membrana o compartimentadas dentro de la célula), así como proteínas unidas a secuencias específicas de DNA y RNA genómicos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

El desarrollo del DNA recombinante, los microarreglos de DNA de alta densidad, la investigación de alta capacidad de procesamiento, los análisis de bajo costo a escala de genoma, así como la secuenciación de DNA y otras metodologías de genética molecular, han revolucionado la biología y cada vez tienen más repercusiones sobre la medicina clínica. Aun cuando se ha aprendido mucho acerca de la enfermedad genética en humanos a partir del análisis de árbol genealógico y el estudio de las proteínas afectadas, estos métodos no pueden usarse en muchos casos en los cuales se desconoce el defecto genético específico. Las nuevas tecnologías sortean estas limitaciones al ir de forma directa a la molécula de DNA para obtener información. La manipulación de una secuencia de DNA y la construcción de moléculas quiméricas (la denominada ingeniería genética) proporcionan un medio para estudiar cómo funciona un segmento de DNA. Los nuevos recursos de genética bioquímica y molecular y la secuenciación directa de DNA permiten a los investigadores hacer preguntas y manipular secuencias genómicas, así como examinar el complemento entero de perfiles tanto de RNA como de proteínas celulares y el estatus PTM proteínico en el ámbito molecular.

El entendimiento de esta tecnología tiene importancia por varias razones: 1) ofrece un método racional para entender la base molecular de diversas enfermedades, por ejemplo, la hipercolesterolemia familiar, la enfermedad de células falciformes, las talasemias, fibrosis quística, distrofia muscular, así como enfermedades multifactoriales más complejas, como enfermedad vascular y cardiaca, enfermedad de Alzheimer, cáncer, obesidad y diabetes. 2) Es posible producir proteínas de humano en abundancia para terapia (p. ej., insulina, hormona de crecimiento, activador del plasminógeno hístico). 3) Pueden obtenerse proteínas para vacunas (p. ej., hepatitis B) y para pruebas diagnósticas (p. ej., análisis para ébola y síndrome de inmunodeficiencia adquirida [AIDS]). 4) Esta tecnología se usa para diagnosticar enfermedades existentes y predecir el riesgo de aparición de una enfermedad dada y la respuesta individual a la farmacoterapia. 5) Técnicas especiales han llevado a notorios avances en medicina forense. 6) Es factible idear terapia génica para, en potencia, curar enfermedades causadas por una deficiencia de un gen único, como la enfermedad de células falciformes, las talasemias, la deficiencia de adenosina desaminasa, entre otras.

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE COMPRENDE AISLAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE DNA PARA HACER MOLÉCULAS QUIMÉRICAS

El aislamiento y la manipulación de DNA, incluso unión término-terminal de secuencias de fuentes muy distintas para hacer moléculas quiméricas (p. ej., moléculas que contienen secuencias de DNA tanto de ser humano como bacterianas de un modo independiente de secuencia), es la esencia de la investigación del DNA recombinante. Esto incluye varias técnicas y reactivos únicos.

Las enzimas de restricción cortan cadenas de DNA en ubicaciones específicas

Ciertas endonucleasas (enzimas que cortan el DNA en secuencias de DNA específicas dentro de la molécula [en contraposición con las exonucleasas, que digieren desde los extremos de las moléculas de DNA]) son un recurso clave en la investigación

* Véase el glosario al final de este capítulo.

del DNA recombinante. Estas enzimas se llamaron **enzimas de restricción** porque su presencia en una bacteria dada restringió (es decir, previno) el crecimiento de ciertos virus de bacterias denominados bacteriófagos. Las enzimas de restricción cortan el DNA de cualquier fuente en fragmentos cortos únicos de una manera específica para secuencia, en contraste con casi todos los otros métodos enzimáticos, químicos o físicos, que rompen el DNA al azar. Estas enzimas defensivas (se han descubierto cientos) protegen al DNA de la bacteria huésped contra el genoma de DNA de organismos extraños (sobre todo fagos infecciosos) al desactivar de modo específico el DNA del fago invasor por medio de digestión. El sistema de interferón inducible por RNA viral (capítulo 38, figura 38-11) proporciona la misma clase de defensa molecular contra virus RNA en células de mamífero. Sin embargo, las endonucleasas de restricción sólo están presentes en células que también tienen una enzima acompañante que metila de manera específica para sitio el DNA huésped; ello lo hace un sustrato no idóneo para digestión por esa enzima de restricción particular. Así, **DNA metilasas específicas para sitio** y enzimas de restricción que se dirigen a los mismos sitios exactos siempre existen en pares en una bacteria.

Las enzimas de restricción se denominan con base en la bacteria a partir de la cual fueron aisladas. Por ejemplo, *EcoRI* proviene de *Escherichia coli*, y *BamHI*, de *Bacillus amyloliquefaciens* (**cuadro 39-1**). Las primeras tres letras del nombre de la enzima de restricción constan de la primera letra del género *(E)* y las primeras dos letras de la especie *(co)*; éstas pueden ir seguidas por designación de cepa *(R)* y un número romano *(I)* para indicar el orden de descubrimiento (p. ej., *EcoRI, EcoRII*). Cada enzima reconoce y divide una secuencia de DNA bicatenario específica que típicamente tiene 4 a 7 bp de largo. Estos cortes en el DNA dan por resultado **extremos romos** (p. ej., *HpaI*) o que se superponen **(pegajosos o cohesivos)** (p. ej., *BamHI*) (**figura 39-1**), según el mecanismo usado por la enzima. Los extremos pegajosos son en especial útiles para construir moléculas de DNA híbridas o quiméricas (véase más adelante). Si los cuatro nucleótidos están distribuidos al azar en una molécula de DNA dada, es posible calcular la frecuencia con la cual una enzima dada cortará un tramo de DNA. Para cada posición en la molécula de DNA, hay cuatro posibilidades (A, C, G y T); en consecuencia, una enzima de restricción que reconoce una secuencia de 4 bp, corta, en promedio, una vez cada 256 bp (4^4), mientras que otra enzima que reconoce una secuencia de 6 bp, corta una vez cada 4 096 bp (4^6). Un fragmento dado de DNA tiene una disposición lineal característica de sitios para las diversas enzimas, dictada por la secuencia lineal de sus bases; por ende, es posible construir un **mapa de restricción**. Cuando el DNA se digiere con una enzima particular, los extremos de todos los fragmentos tienen la misma secuencia de DNA. Los fragmentos producidos se pueden aislar mediante electroforesis en gel de agarosa o de poliacrilamida (véase la exposición de la electrotransferencia, más adelante); éste es un paso esencial en la clonación del DNA, así como en diversos análisis de DNA y un uso importante de estas enzimas.

Varias otras enzimas que actúan sobre el DNA y RNA son una parte importante de la tecnología de DNA recombinante. Se hace referencia a muchas de éstas en este capítulo y en otros subsiguientes (**cuadro 39-2**).

CUADRO 39-1 Endonucleasas de restricción seleccionadas y sus especificidades de secuencia

Endonucleasa	Sitios de división reconocidos de secuencia mostrados	Fuente bacteriana
BamHI	↓ GGATCC CCTACC ↑	*Bacillus amyloliquefaciens H*
BglII	↓ AGATCT TCTAGA ↑	*Bacillus globigii*
EcoRI	↓ GAATTC CTTAAC ↑	*Escherichia coli RY13*
EcoRII	↓ CCTGG GGACC ↑	*Escherichia coli R245*
HindIII	↓ AAGCTT TTCGAA ↑	*Haemophilus influenzae* R_d
HhaI	↓ GCGC CGCG ↑	*Haemophilus haemolyticus*
HpaI	↓ GTTAAC CAATTC ↑	*Haemophilus Parainfluenza*
MstII	↓ CCTnAGG GGAnTCC ↑	*Microcoleus strain*
PstI	↓ CTGCAG GACGTC ↑	*Providencia stuartii* 164
TaqI	↓ TCGA AGCT ↓	*Thermus aquaticus* YTI

Abreviaturas: A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina. Las flechas muestran el sitio de división; según el sitio, los extremos del DNA bicatenario dividido resultante se denominan extremos pegajosos (*BamHI*) o extremos romos (*HpaI*). La longitud de la secuencia de reconocimiento puede ser de 4 bp (*TaqI*), 5 bp (*EcoRII*), 6 bp (EcoRI), o 7 bp (*MstII*) o más. Por tradición, se escriben en la dirección 5′ a 3′ para la cadena superior de cada secuencia de reconocimiento, y la cadena inferior se muestra con la polaridad opuesta (es decir, 3′ a 5′). Note que casi todas las secuencias de reconocimiento son palíndromos (esto es, la secuencia se lee igual en direcciones opuestas en las dos cadenas). Un residuo designado N significa que se permite cualquier nucleótido.

Las enzimas de restricción, endonucleasas, recombinasas y la DNA ligasa se usan para modificar y preparar moléculas de DNA quiméricas

La ligadura de extremo pegajoso o cohesivo complementario de fragmentos de DNA es fácil desde el punto de vista técnico, pero suelen requerirse algunas técnicas particulares para superar

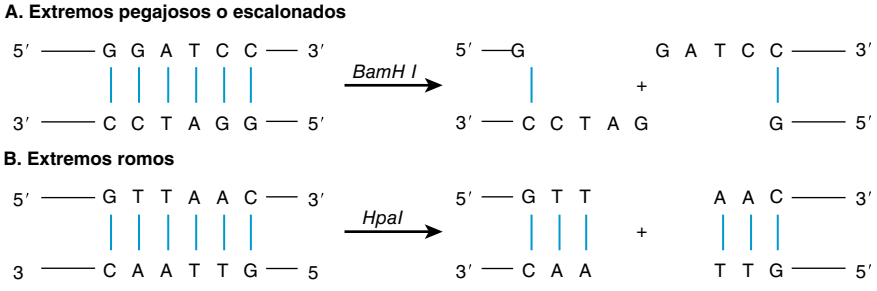


FIGURA 39-1 Resultados de la digestión con endonucleasa de restricción. La digestión con una endonucleasa de restricción puede dar lugar a la formación de fragmentos de DNA con extremos pegajosos, o cohesivos **(A)** o extremos romos **(B)**; esqueleto de fosfodiéster, líneas de color negro; enlaces de hidrógeno intercadena entre bases purina y pirimidina, azul. Ésta es una consideración importante al idear estrategias de clonación.

problemas inherentes en este método. Los extremos pegajosos de un vector pueden reconectarse consigo mismos, sin ganancia neta de DNA. Los extremos pegajosos de fragmentos también se renaturalizan de manera que se forman insertos en tándem heterogéneos. Asimismo, los sitios de extremo pegajoso quizá no estén disponibles o en una posición conveniente. Para sortear estos problemas, es factible emplear una enzima que genera extremos romos, mismos que se pueden ligar de modo directo; empero, la ligadura no es direccional. De esta manera, hay dos alternativas: se añaden nuevos extremos usando la enzima terminal transferasa o se añaden extremos pegajosos sintéticos. Si se añade poli d(G) a los extremos 3′ del vector, y se adiciona poli d(C) a los extremos 3′ del DNA extraño usando terminal transferasa, las dos moléculas únicamente pueden renaturalizarse una con otra, lo que sortea los problemas antes listados. Este procedimiento recibe el nombre de colocación de cola de homopolímero. De modo alternativo, enlazadores de oligonucleótido dúplex, con extremo romo, sintéticos, que contienen la secuencia de reconocimiento para una secuencia de enzima de restricción conveniente, se ligan al DNA con extremo romo. La ligadura de extremo romo directa se logra usando la enzima bacteriófago T4 DNA ligasa. Esta técnica, si bien es menos eficiente que la ligadura de extremo pegajoso, plantea la ventaja de unir cualesquiera pares de extremos. Si se usan métodos de extremos romos o de colocación de cola de homopolímero, no hay una manera fácil de recuperar el inserto. De manera alternativa, pueden añadirse terminaciones cohesivas apropiadas mediante el uso de amplificación con PCR (véase más adelante).

CUADRO 39-2 Algunas de las enzimas usadas en la investigación de DNA recombinante

Enzima	Reacción	Uso primario
Fosfatasas	Desfosforila extremos 5′ de RNA y DNA	Eliminación de grupos 5′-PO_4 antes de marcado con cinasa; también se emplea para impedir autoligadura
DNA ligasa	Cataliza enlaces entre moléculas de DNA	Unión de moléculas de DNA
DNA polimerasa I	Sintetiza DNA bicatenario a partir de DNA monocatenario	Síntesis de cDNA bicatenario; traducción de muesca; generación de extremos romos a partir de extremos pegajosos
Polimerasas DNA termoestables	Sintetiza DNA a temperaturas elevadas (60-80 °C)	Reacción en cadena de la polimerasa (síntesis de DNA)
DNasa I	En condiciones apropiadas, produce muescas de una sola cadena en el DNA	Traducción de muesca; mapeo de sitios hipersensibles; mapeo de interacciones entre proteína y DNA
Exonucleasa III	Elimina nucleótidos de los extremos 3′ del DNA	Secuenciación de DNA; mapeo de interacciones entre DNA y proteína
λ Exonucleasa	Elimina nucleótidos de los extremos 5′ del DNA	Secuenciación de DNA
Polinucleótido cinasa	Transfiere fosfato terminal (posición gamma) desde ATP hacia grupos 5′-OH del DNA o el RNA	Marcado terminal ^{32}P de DNA o RNA
Transcriptasa inversa	Sintetiza DNA a partir de la plantilla de RNA	Síntesis de cDNA a partir de mRNA; estudios de mapeo de RNA (extremo 5′)
RNAsa H	Degrada la porción de RNA del híbrido DNA-RNA	Síntesis de cDNA desde mRNA
S1 nucleasa	Degrada DNA monocatenario	Eliminación de "horquilla" en la síntesis de cDNA; estudios de mapeo de RNA (extremos tanto 5′ como 3′)
Terminal transferasa	Añade nucleótidos a los extremos 3′ del DNA	Fijación de cola de homopolímero
Recombinasas (CRE, INT, FLP)	Catalizan la recombinación específica para sitio entre secuencias blanco homólogas que contienen DNA	Generación de moléculas de DNA quiméricas específicas, que funcionan tanto *in vitro* como *in vivo*
CRISPER-Cas9	Nucleasa dirigida por DNA, dirigida a RNA	Edición del genoma y modulación de la expresión de gen

(Adaptado y reproducido, con autorización, de Emery AEH: Page 41 in: *An Introduction to Recombinant DNA*. Wiley, 1984. Copyright © 1984 John Wiley & Sons Limited. Reproducido con autorización).

Como un adjunto para el uso de endonucleasas de restricción, los científicos han empezado a utilizar recombinasas procariontes o eucariontes específicas, como los sitios lox P bacterianos, que son reconocidos por la recombinasa CRE, bacteriófago λ en sitios reconocidos por la proteína INT codificada por el fago λ, o sitios FRT de levadura reconocidos por la recombinasa Flp de levadura. Todos estos sistemas de recombinasa catalizan la incorporación específica de dos fragmentos de DNA que portan las secuencias de reconocimiento apropiadas y llevan a cabo recombinación homóloga (figura 35-9) entre los sitios de reconocimiento relevantes. En fecha muy reciente, se ha desarrollado un nuevo sistema de edición de DNA/regulador de gen denominado CRISPR-Cas9 (gen 9 asociado con repeticiones palindrómicas cortas intercaladas regularmente agrupadas [*Clustered Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats*]-CRISPR). El sistema CRISPR, que se encuentra en muchas bacterias, representa una forma de inmunidad adquirida a infección por bacteriófagos, que complementa el sistema de endonucleasas de restricción y metilasas antes descrito. En el CRISPR se usa direccionamiento basado en RNA para llevar la nucleasa Cas9 a DNA extraño (o cualquier DNA complementario). Dentro de bacterias este complejo de CRISPR-RNA-Cas9 a continuación degrada el DNA direccionado (establecido como objetivo) y lo desactiva. El sistema CRISPR se ha adaptado para uso en células eucariontes, incluso células de ser humano. Las variaciones en el uso de CRISPR permiten deleción de gen, edición de gen, e incluso modulación de la transcripción de gen. De este modo, el CRISPR ha añadido una interesante tecnología nueva, muy eficiente y muy específica, a la caja de herramientas de métodos para el análisis genético de células de mamífero. Son notables las similitudes del direccionamiento dirigido por RNA CRISPR-Cas y el método de desactivación de gen y represión (mediada por mi/siRNA) de la expresión en eucariontes superiores.

La clonación amplifica el DNA

Una **clona** es una población grande de moléculas, bacterias o células idénticas que surgen a partir de un ancestro común. La clonación molecular permite la producción de un gran número de moléculas de DNA idénticas, que a continuación se caracterizan o se usan para otros propósitos. Esta técnica se basa en el hecho de que moléculas de DNA quiméricas o híbridas pueden construirse en **vectores de clonación** (típicamente plásmidos, fagos o cósmidos bacterianos) que después se siguen replicando en una célula huésped bajo sus propios sistemas de control. De este modo, el DNA quimérico se amplifica. El procedimiento general se ilustra en la **figura 39-2**.

Los **plásmidos** bacterianos son moléculas de DNA pequeñas, circulares, dúplex, cuya función natural es conferir resistencia a antibiótico a la célula huésped. Los plásmidos tienen varias propiedades que los hacen en extremo útiles como vectores de clonación. Existen como copias únicas o múltiples dentro de la bacteria y se replican de manera independiente del DNA bacteriano como **episomas** (es decir, un genoma por encima o afuera del genoma bacterial) mientras usan en forma primordial la maquinaria de replicación del huésped. Se conoce la secuencia

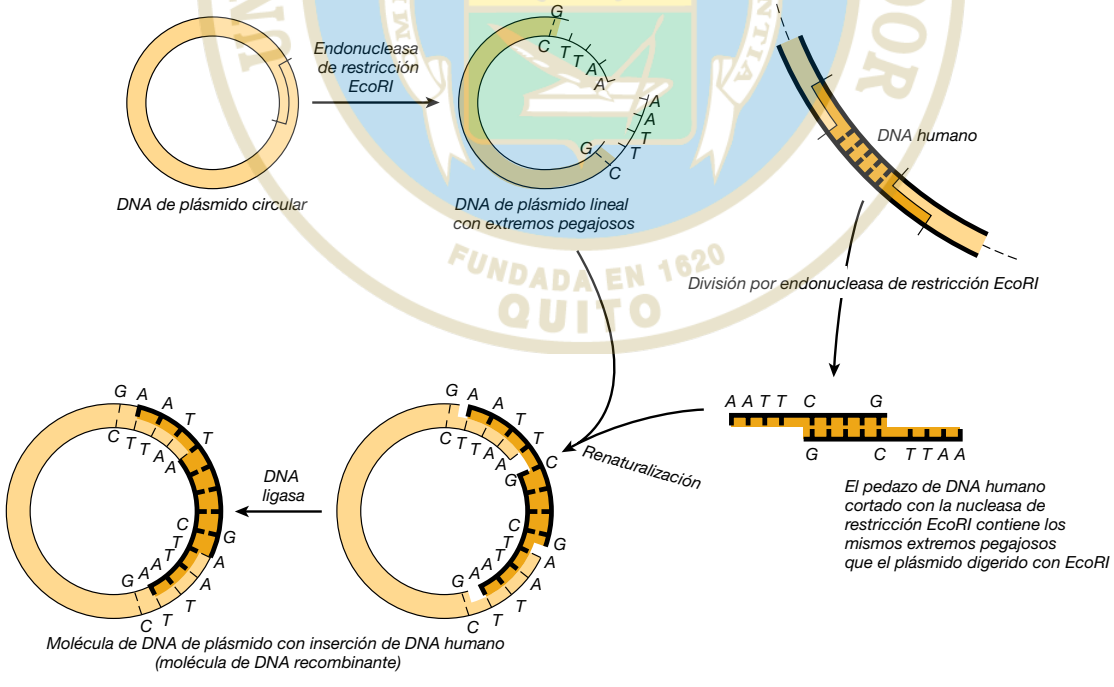


FIGURA 39-2 **Uso de nucleasas de restricción para hacer nuevas moléculas de DNA recombinantes o quiméricas.** Cuando se inserta de regreso hacia una célula bacteriana (por medio del proceso llamado transformación mediado por DNA), una célula única típicamente sólo capta un plásmido único, y el DNA del plásmido se replica no sólo a sí mismo, sino también el inserto de DNA nuevo enlazado físicamente. Dado que la recombinación de los extremos pegajosos, como se indica, suele regenerar la misma secuencia de DNA reconocida por la enzima de restricción original, el inserto de DNA clonado puede cortarse limpiamente de regreso hacia fuera del círculo de plásmido recombinante con esta endonucleasa. Si se usa como la fuente de DNA de humano una mezcla de todos los fragmentos de DNA creados mediante tratamiento de DNA humano total con una nucleasa de restricción única, pueden obtenerse alrededor de un millón de diferentes tipos de moléculas de DNA recombinante, cada una pura en su propia clona bacteriana. (Modificado y reproducido, con autorización, de Cohen SN: The manipulation of genes. Sci Am [July] 1975; 233:25. Copyright © The Estate of Bunji Tagawa).

de DNA completa de cientos a miles de plásmidos; por consiguiente, se dispone de la ubicación precisa de sitios de división de enzima de restricción para insertar el DNA extraño. Los plásmidos son de menor tamaño que el cromosoma del huésped y, por tanto, se separan con facilidad de este último, y el DNA insertado en plásmido deseado se elimina con facilidad al cortar el plásmido con la enzima específica para el sitio de restricción en el cual se insertó el fragmento original de DNA.

Los **fagos (virus de bacterias)** por lo general tienen moléculas de DNA lineales en las que puede insertarse DNA extraño en varios sitios de enzima de restricción. El DNA quimérico se recolecta luego de que el fago procede por su ciclo lítico y produce partículas de fago infecciosas, maduras. Una ventaja importante de los vectores fago es que mientras que los plásmidos aceptan fragmentos de DNA de alrededor de 10 kb de largo, los fagos pueden aceptar fragmentos de DNA de 10 a 20 kb de largo, limitación impuesta por la cantidad de DNA que puede aglomerarse en la cabeza del fago durante la propagación del virus.

Fragmentos de mayor tamaño de DNA se pueden clonar en **cósmidos**, que combinan las mejores características de los plásmidos y los fagos. Los cósmidos son plásmidos que contienen las secuencias de DNA, denominadas **sitios cos**, necesarias para aglomerar DNA del bacteriófago lambda hacia la partícula fago. Estos vectores crecen en la forma de plásmido en bacterias, pero dado que se ha eliminado gran parte del DNA lambda innecesario, puede aglomerarse más DNA quimérico en la cabeza de la partícula. Con cierta frecuencia los cósmidos portan insertos de DNA quimérico que tienen 35 a 50 kb de largo. Pueden incorporarse fragmentos de DNA de tamaño aún mayor hacia cromosoma artificial bacteriano **(BAC)**, cromosoma artificial de levadura **(YAC)** o vectores basados en P1 **(PAC)** de bacteriófago de *E. coli*. Estos vectores aceptarán y propagarán insertos de DNA de varios cientos de kilobases o más, y en su mayor parte han reemplazado a los vectores plásmido, fago y cósmido para algunas aplicaciones de clonación y mapeo de gen eucariótico. En el **cuadro 39-3** se comparan estos vectores.

Puesto que la inserción de DNA hacia una región funcional del vector interferirá con la acción de esta región, es necesario tener cuidado de no interrumpir una función esencial del vector. Con todo, este concepto se puede explotar para proporcionar una técnica de selección. Por ejemplo, un reactor plásmido temprano común **pBR322** tiene genes que codifican para resistencia tanto a **tetraciclina (tet)** como a **ampicilina (amp)**. Un sitio de enzima de restricción *PstI* único dentro del gen que codifica para resistencia a AMP a menudo se usa como el sitio de inserción para un fragmento de DNA extraño. Además de tener extremos pegajosos (cuadro 39-1 y figura 39-1), el DNA insertado en este sitio altera el gen que codifica para resistencia a ampicilina (*bla*) y hace a la bacteria que porta este plásmido sensible a amp. Así, las células que portan el plásmido padre, que proporciona resistencia a ambos antibióticos, pueden distinguirse y separarse con facilidad de las células que portan el plásmido quimérico, que sólo es resistente a tetraciclina (**figura 39-3**). Los YAC contienen funciones de selección, replicación y segregación que actúan tanto en bacterias como en células de levadura y, en consecuencia, pueden propagarse en uno u otro organismo.

CUADRO 39-3 Capacidades de clonación de vectores de clonación comunes

Vector	Tamaño del inserto de DNA (kb)
Plásmido pUC19	0.01-10
Lambda charon 4A	10-20
Cósmidos	35-50
BAC, P1	50-250
YAC	500-3 000

Además de los vectores descritos en el cuadro 39-3, diseñados principalmente para propagación en células bacterianas, se han creado vectores para propagación en células de mamífero y para insertar expresión de gen (cDNA)/proteína. Todos estos vectores se basan en diversos virus eucarióticos que están compuestos de genomas de RNA o DNA. Los ejemplos notables de esos **vectores virales** son los que utilizan genomas **adenovirales (Ad)**, o **virales asociados con adenovirus (AAV)** (basados en DNA) y **retrovirales** (basados en RNA). Aunque un poco limitados en el tamaño de secuencias de DNA que pueden insertarse, esos **vectores de clonación de virus de mamífero** compensan este punto débil porque infectarán con eficiencia una amplia gama de diferentes tipos de célula. Por esta razón, diversos vectores virales de mamíferos, algunos con genes de selección tanto positiva como negativa (también conocidos como "marcadores" seleccionables) como se mencionó para pBR322, se están investigando para uso en **terapia génica** y se usan comúnmente para experimentos de laboratorio.

Una biblioteca es una colección de clonas recombinantes

La combinación de enzimas de restricción y diversos vectores de clonación permite que todo el genoma de un organismo se aglomere de forma individual en un vector. Una colección de estas clonas recombinantes diferentes se llama biblioteca. Una **biblioteca genómica** se prepara a partir del DNA total de una línea celular o un tejido. Una **biblioteca de cDNA** comprende copias de DNA complementarias de la población del mRNA en un tejido. Las bibliotecas de DNA genómicas suelen prepararse al efectuar **digestión parcial del DNA total** con una enzima de restricción que corta DNA con frecuencia (p. ej., un cortador de cuatro bases como *TaqI*). La idea es generar más bien fragmentos grandes de modo que casi todos los genes se dejarán intactos. Se prefieren los vectores BAC, YAC y P1 porque pueden aceptar fragmentos muy grandes de DNA y, de esta manera, ofrecen una mejor oportunidad de aislar un gen que codifica para mRNA eucariótico intacto en un fragmento de DNA único.

Un vector en el cual en realidad se sintetiza la proteína codificada por el gen introducido por medio de tecnología de DNA recombinante se conoce como un **vector de expresión**. Esos vectores ahora suelen usarse para detectar moléculas de cDNA específicas en bibliotecas y producir proteínas mediante técnicas de ingeniería genética. Estos vectores están construidos en especial para contener promotores inducibles muy activos, codones de inicio de la traducción en fase apropiados, señales de terminación tanto de la transcripción como de la traducción, y

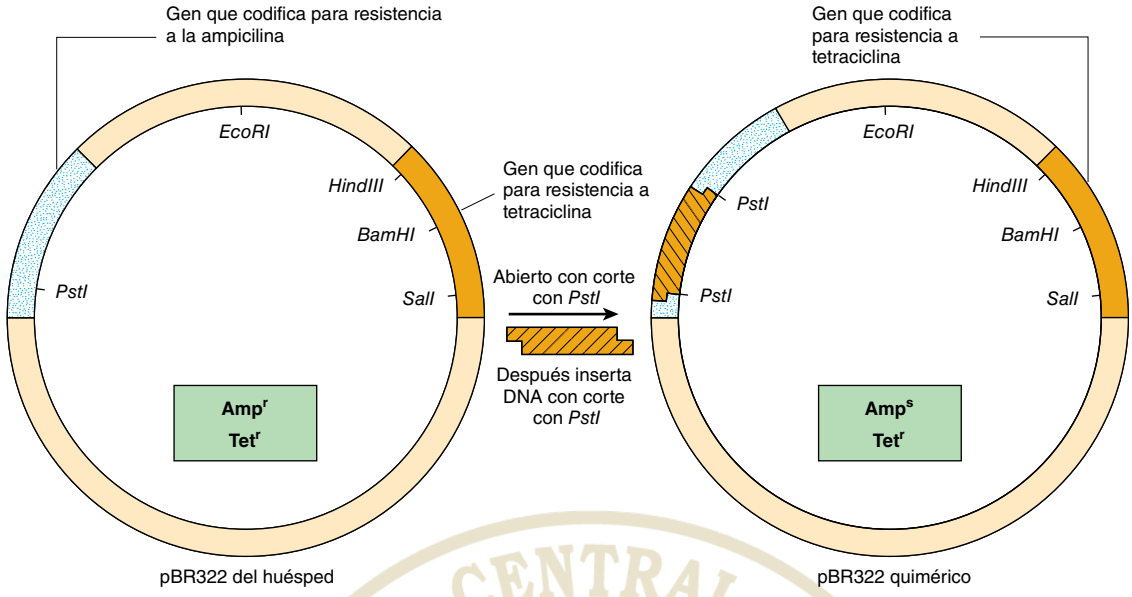


FIGURA 39-3 Un método de investigar recombinantes para fragmentos de DNA insertados. Al emplear el plásmido pBR322, se inserta un fragmento de DNA en el sitio de *PstI* único. Esta inserción altera la codificación de gen para una proteína que proporciona a la bacteria huésped resistencia a ampicilina. Por consiguiente, las células que portan el plásmido quimérico ya no sobrevivirán cuando se colocan en una placa con un medio de sustrato que contiene este antibiótico; por tanto, la sensibilidad diferencial a la tetraciclina y ampicilina puede usarse para distinguir clonas de plásmido que contienen un inserto. Un esquema similar que se fundamenta en la producción de una fusión dentro de cuadro de un DNA recién insertado que da por resultado un fragmento peptídico capaz de complementar una forma N-terminalmente truncada, inactiva, de la enzima β-galactosidasa, un componente del operón *lac* (figura 38-2), permite la formación de colonias de color azul-blanco sobre placas de agar que contienen un colorante hidrolizable por medio de β-galactósido. Las colonias positivas para β-galactosidasa son de color azul; esas colonias contienen plásmidos en los cuales se insertó con éxito un DNA.

señales de procesamiento de proteína apropiadas, si es necesario. Algunos vectores de expresión incluso contienen genes que codifican para inhibidores de proteasa, de modo que el rendimiento final del producto aumenta. Es interesante que conforme el costo de las síntesis de DNA sintético ha disminuido, muchos investigadores a menudo sintetizan un cDNA completo (gen) de interés (en segmentos de 100 a 150 nt) que incorpora las preferencias de codón del huésped usado para la expresión con el fin de maximizar la producción de proteína. Una mayor eficiencia en la síntesis de DNA sintético ahora permite la síntesis *de novo* de genes e incluso genomas completos. Estos avances marcan el comienzo de nuevas e interesantes posibilidades en la biología sintética, mientras que al mismo tiempo introducen dilemas éticos potenciales.

Las sondas buscan bibliotecas o muestras complejas para genes o moléculas de cDNA específicos

Diversas moléculas pueden emplearse para "sondear" bibliotecas en la búsqueda de un gen o una molécula de cDNA específico o definir y cuantificar DNA o RNA separado por medio de electroforesis mediante diversos geles. Las sondas regularmente son fragmentos de DNA o RNA marcados con un nucleótido que contiene ^{32}P, o nucleótidos marcados con fluorescencia (más a menudo ahora). Es importante señalar que ni una ni otra modificación (marcado con ^{32}P o fluorescente) afecta las propiedades de hibridación de las sondas de ácido nucleico marcadas resultantes. Para que sea eficaz, es necesario que la sonda reconozca una secuencia complementaria. Un cDNA sintetizado a partir de un mRNA específico (u oligonucleótido sintético) puede usarse para investigar una biblioteca de cDNA para buscar un cDNA de mayor tamaño, o una biblioteca genómica para buscar una secuencia complementaria en la región codificadora de un gen. Las sondas de cDNA/oligonucleótidos/cRNA se usan para detectar fragmentos de DNA en las electrotransferencias Southern, y para detectar y cuantificar RNA en electrotransferencias Northern (véase después).

Técnicas de electrotransferencia e hibridación permiten visualización de fragmentos específicos

La visualización de un fragmento de DNA o RNA específico entre los muchos miles de moléculas "contaminantes" en una muestra compleja requiere la convergencia de diversas técnicas, denominadas en conjunto **electrotransferencia**. En la **figura 39-4** se ilustran los procedimientos de electrotransferencia **Southern** (DNA), **Northern** (RNA) y **Western** (proteína). (El primero se denomina en honor a quien ideó la técnica [Edward Southern] y los otros nombres empezaron como jerga de laboratorio, pero ahora son términos aceptados.) Estos procedimientos son útiles para determinar cuántas copias de un gen hay en un tejido dado, o si hay alguna alteración gruesa en un gen (deleciones, inserciones o reordenamientos) porque el paso de electroforesis que constituye un requisito separa las moléculas con base en el tamaño. A veces, si una base específica se cambia y un sitio de restricción se altera, estos procedimientos pueden detectar una mutación puntual (es decir, figura 39-9, abajo). Las técnicas de electrotransferencia Northern y Western se usan para medir y

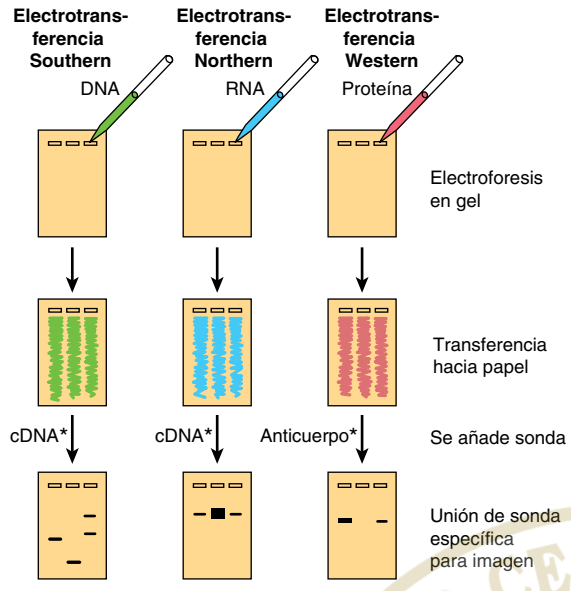


FIGURA 39-4 Procedimiento de electrotransferencia. En una electrotransferencia Southern, o de DNA, el DNA aislado a partir de una línea celular o de un tejido se digiere con una o más enzimas de restricción. Esta mezcla se transfiere con pipeta hacia un pozo en un gel de agarosa o de poliacrilamida y se expone a una corriente eléctrica directa. El DNA, al tener carga negativa, migra hacia el ánodo; los fragmentos de menor tamaño se mueven con mayor rapidez. Luego de un tiempo idóneo, el DNA que está dentro del gel se desnaturaliza mediante exposición a álcalis leves y se transfiere hacia papel de nitrocelulosa o nailon, lo que origina una réplica exacta del modelo en el gel, por medio de la técnica de electrotransferencia ideada por Southern. El DNA se une al papel mediante exposición a calor o rayos UV, y a continuación el papel se expone a la sonda de cDNA marcada, que se hibrida hacia fragmentos complementarios en el filtro. Después de lavado exhaustivo, el papel es expuesto a placa de rayos X o a un escrutinio de imagen, que se revela para mostrar varias bandas específicas que corresponden al fragmento de DNA que reconoció las secuencias en la sonda de cDNA. La electrotransferencia de RNA, o Northern, es similar desde el punto de vista conceptual. El RNA se sujeta a electroforesis antes de electrotransferencia; esto necesita algunos pasos diferentes de los de la transferencia de DNA, principalmente para asegurar que el RNA permanezca intacto, y por lo general es un poco más difícil. En la electrotransferencia de proteína o Western, las proteínas se someten a electroforesis y se transfieren hacia papel especial que se une con avidez a macromoléculas, y luego se sondea con un anticuerpo específico u otra molécula sonda. (Los asteriscos significan marcado, sea radiactivo o fluorescente). En el caso de la electrotransferencia Southwestern (véase el texto; no se muestra), una electrotransferencia de proteína similar a la que se muestra arriba bajo "Western" se expone a ácido nucleico marcado, y los complejos de proteína-ácido nucleico formados se detectan por medio de autorradiografía o técnicas de imagen.

cuantificar moléculas de RNA y proteínas específicas, respectivamente. Una cuarta técnica de hibridación, la electrotransferencia **Southwestern**, examina interacciones entre proteína y DNA (que no se muestran). En este método, las proteínas se separan por medio de electroforesis, se electrotransfieren a una membrana, se renaturalizan y son analizadas para buscar una interacción con una secuencia particular mediante incubación con una sonda de ácido nucleico marcada específica.

Todos los procesos de hibridación que se comentan en esta sección dependen de las propiedades de formación de pares de bases específicas de cadenas de ácido nucleico complementarias antes descritas. Las coincidencias perfectas se hibridan con facilidad y soportan temperaturas altas en las reacciones de hibridación y lavado. También se forman complejos específicos en presencia de concentraciones bajas de sal. Las coincidencias menos que perfectas no toleran estas **condiciones difíciles** (es decir, temperaturas altas y concentraciones bajas de sal); de este modo, la hibridación nunca ocurre o queda alterada durante el paso de lavado. Las familias de genes, en las cuales hay cierto grado de homología, pueden detectarse al variar lo riguroso de los pasos de hibridación y lavado. Con este método también pueden hacerse comparaciones de un gen dado a través de especies. Se han ideado condiciones de hibridación capaces de detectar sólo un error de emparejamiento de par de base (bp) única entre la sonda y el blanco.

Hay técnicas manuales y automatizadas para determinar la secuencia de DNA

Los segmentos de moléculas de DNA específicas obtenidas mediante tecnología de DNA recombinante se pueden analizar para determinar su secuencia de nucleótido. Las secuenciación de DNA depende de tener un número grande de moléculas de DNA idénticas; este requisito puede satisfacerse al clonar el fragmento de interés, usando las técnicas antes descritas, o al usar métodos PCR (ver después). En el **método enzimático manual de Sanger** se emplean desoxinucleótidos específicos que terminan la síntesis de cadena de DNA en nucleótidos específicos a medida que la cadena se sintetiza sobre ácido nucleico plantilla purificado. Las reacciones se ajustan de manera que se obtiene una población de fragmentos de DNA que representan terminación en cada nucleótido. Al tener una marca radiactiva incorporada en el sitio de terminación, es posible separar los fragmentos de acuerdo con el tamaño usando electroforesis en gel de poliacrilamida. Se obtiene una autorradiografía y cada uno de los fragmentos produce una imagen (banda) en una placa de rayos X o una placa de imágenes, las cuales se leen en orden para dar la secuencia de DNA (**figura 39-5**). Las técnicas que no necesitan el uso de radioisótopos se emplean en la secuenciación de DNA automatizada. Con mayor frecuencia se emplea un procedimiento automatizado en el cual se usan cuatro marcas fluorescentes distintas (una representa cada nucleótido). Cada una emite una señal específica en el momento de la excitación por un haz láser de una longitud de onda particular medida por detectores de densidad, y esto puede registrarse por medio de una computadora. En los aparatos de secuenciación de DNA más nuevos se usan nucleótidos marcados con fluorescencia, pero detectan incorporación usando óptica microscópica. Estos aparatos han disminuido de modo significativo, más de 100 veces, el costo de la secuenciación del DNA; estos decrementos del costo han introducido la era de la secuenciación de genomas personalizada. De hecho, usando esta nueva tecnología se determinó por completo la secuencia del codescubridor de la doble hélice, James Watson.

La síntesis de oligonucleótido ahora es sistemática

Hoy, la síntesis química automatizada de oligonucleótidos moderadamente largos (alrededor de 100 nucleótidos) de secuencia precisa, es un procedimiento de laboratorio sistemático. Cada ciclo de síntesis requiere sólo algunos minutos, de manera que

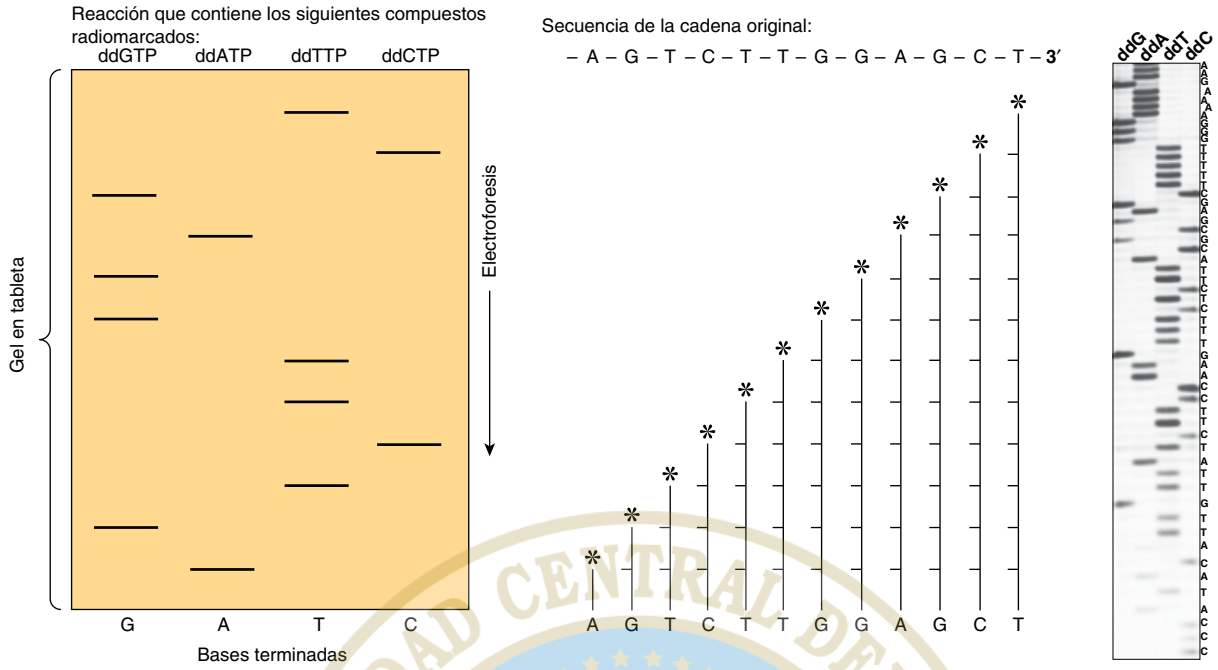


FIGURA 39-5 Secuenciación de DNA mediante el método de terminación de cadena ideado por Sanger. Las disposiciones parecidas a escalera representan, de abajo hacia arriba, todos los fragmentos sucesivamente más largos de la cadena de DNA original. Al saber cuál reacción de didesoxinucleótido específica se efectuó para producir cada mezcla de fragmentos, es posible determinar la secuencia de nucleótidos desde el extremo no marcado hacia el marcado (*) al interpretar el gel. Las reglas de formación de pares de bases identificadas por Watson y Crick (A-T, G-C) dictan la secuencia de la otra cadena (complementaria). (Los asteriscos significan el sitio de radiomarcado). Se muestran (**izquierda, en medio**) los productos de síntesis terminados de un fragmento hipotético de DNA, así como la secuencia. Una autorradiografía (**derecha**) de un grupo real de reacciones de secuenciación de DNA en las que se emplearon los cuatro didesoxinucleótidos ^{32}P-marcados indicados en la porción superior de la autorradiografía escaneada (es decir, didesoxi(dd)G, ddA, ddT, ddC). La electroforesis se llevó a cabo de arriba hacia abajo. La secuencia de DNA deducida se lista en el lado derecho del gel. Note la relación logarítmica-lineal entre la distancia de migración (es decir, de arriba abajo del gel) y la longitud del fragmento de DNA. En los secuenciadores de DNA actuales ya no se utiliza electroforesis en gel para fraccionamiento de productos de síntesis marcados. Además, en las plataformas de secuenciación NGS, la síntesis va seguida por vigilancia de la incorporación de los cuatro dXTP marcados con fluorescencia.

puede hacerse una molécula completa al sintetizar segmentos relativamente cortos que luego se pueden ligar entre sí. Como ya se mencionó, el proceso se ha miniaturizado, y puede ponerse en paralelo de manera importante para permitir la síntesis simultánea de cientos a miles de oligonucleótidos de secuencia definida. Los oligonucleótidos ahora son indispensables para la secuenciación de DNA, las investigaciones de biblioteca, las valoraciones de unión de proteína-DNA, la reacción en cadena de polimerasa (PCR) (véase más adelante), mutagénesis dirigida hacia sitio, síntesis completa de gen sintético, así como síntesis de genoma (bacteriano) completo y muchas otras aplicaciones.

El método de reacción en cadena de polimerasa (PCR) amplifica secuencias de DNA

La **PCR** es un método para amplificar una secuencia de DNA blanco. El desarrollo de la PCR ha revolucionado las maneras en las cuales pueden estudiarse tanto el DNA como el RNA. La PCR proporciona un medio sensible, selectivo y en extremo rápido de amplificar cualquier secuencia de DNA deseada. La especificidad se basa en el uso de dos cebadores de oligonucleótido que se hibridan a secuencias complementarias en cadenas opuestas de DNA y flanquean la secuencia blanco (**figura 39-6**). Primero, la muestra de DNA se desnaturaliza por calor (> 90 °C) para separar las dos cadenas de la plantilla de DNA que contiene la secuencia blanco; se permite que los cebadores, añadidos en gran exceso, se hibriden con el DNA (típicamente a 50 a 75 °C), y cada cadena es copiada por una DNA polimerasa, empezando en los sitios de los cebadores en presencia de los cuatro dXTP (de nuevo en gran exceso). Las dos cadenas de DNA sirven, cada una, como una plantilla para la síntesis de nuevo DNA a partir de los dos cebadores. Ciclos repetidos de desnaturalización por calor, hibridación de los cebadores con sus secuencias complementarias, y extensión de los cebadores hibridados con DNA polimerasa, dan lugar a la amplificación exponencial de segmentos de DNA de longitud definida (una duplicación en cada ciclo). La síntesis de DNA es catalizada por una DNA polimerasa estable ante el calor, purificada a partir de una de varias bacterias termófilas diferentes, organismos que crecen entre 70 a 80 °C. Las DNA polimerasas termoestables resisten incubaciones breves a más de 90 °C, temperaturas que se requieren para desnaturalizar por completo el DNA. Estas DNA polimerasas termoestables han hecho posible la automatización de la PCR.

Es posible amplificar secuencias de DNA tan cortas como de 50 a 100 bp y tan largas como de 10 kb por PCR; 20 ciclos proporcionan una amplificación de 10^6 (esto es, 2^{20}) y 30 ciclos, 10^9 (2^{30}). Cada ciclo requiere de ≤ 5 a 10 minutos, de modo que incluso moléculas de DNA grandes pueden amplificarse con rapidez. La

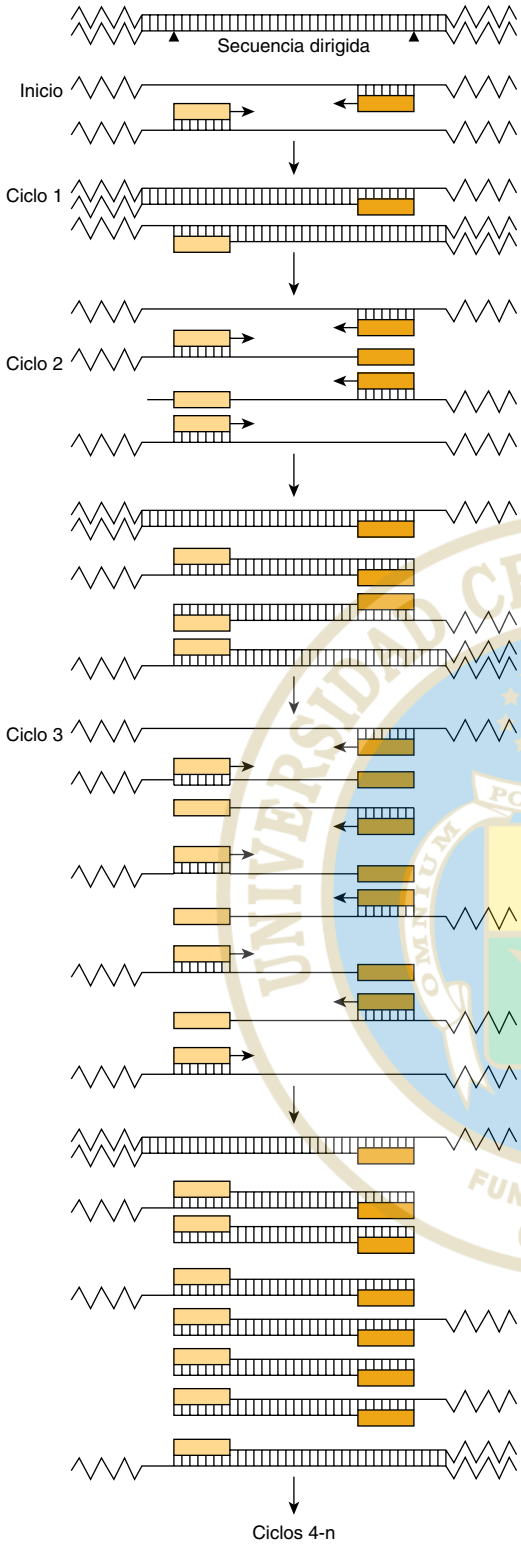


FIGURA 39-6 La reacción en cadena de polimerasa se usa para amplificar secuencias de gen específicas. El DNA bicatenario se calienta para separarlo hacia cadenas individuales, las cuales se unen a dos preparadores distintos que se dirigen a secuencias específicas en cadenas opuestas, y que definen el segmento que va a ser amplificado. La DNA polimerasa extiende los preparadores en cada dirección, y sintetiza dos cadenas complementarias a las dos originales. Este ciclo se repite varias veces y da un producto amplificado de longitud y secuencia definidas. Note que los cuatro dXTP y los dos cebadores están presentes en gran exceso, de modo que no sean limitantes para la polimerización/amplificación.

PCR permite amplificar y analizar el DNA en una sola célula, folículo piloso o espermatozoide. Así, las aplicaciones de la PCR a la medicina forense son obvias. La PCR también se usa para: 1) detectar agentes infecciosos, en especial virus latentes; 2) hacer diagnósticos genéticos prenatales; 3) detectar polimorfismos alélicos; 4) establecer tipos de tejido exactos para trasplantes; 5) estudiar la evolución, usando DNA de muestras arqueológicas; 6) análisis de RNA cuantitativos después de copia de RNA y cuantificación de mRNA por medio del llamado método de RTPCR (copias de cDNA de mRNA generadas mediante una transcriptasa inversa retroviral) o 7) efectuar puntuación de ocupación de proteína-DNA *in vivo* usando valoraciones de inmunoprecipitación de cromatina (véase más adelante). Cada año se crean nuevas aplicaciones de la PCR.

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE TIENE NUMEROSAS APLICACIONES PRÁCTICAS

El aislamiento de un gen que codifica para mRNA específico (alrededor de 1 000 bp) a partir de un genoma entero necesita una técnica que discriminará una parte en un millón. La identificación de una región reguladora que puede tener sólo 10 bp de longitud requiere una sensibilidad de una parte en 3×10^8; una enfermedad como la anemia de células falciformes se origina por un cambio de base único, o una parte en 3×10^9. La tecnología de DNA es lo bastante potente como para lograr todas estas cosas.

El mapeo de gen localiza genes específicos a distintos cromosomas

De este modo, la localización de gen puede definir un mapa del genoma humano: esto ya está produciendo información útil en la definición de enfermedad de humanos. La hibridación de células somáticas y la hibridación *in situ* son dos técnicas que se usan para lograr esto. En la **hibridación *in situ***, el procedimiento más simple y más directo, se añade una sonda radiactiva a una dispersión de cromosomas en metafase sobre una laminilla de vidrio. El área precisa de hibridación se localiza al colocar capas de emulsión fotográfica sobre la laminilla y, después de exposición, alinear los granos con alguna identificación histológica del cromosoma. **La hibridación *in situ* fluorescente (FISH)**, en la que se utilizan sondas fluorescentes en lugar de sondas marcadas con radiactividad, es una técnica muy sensible que también se usa para este propósito; esto suele colocar al gen en una ubicación sobre una banda o región dada en el cromosoma. El **cuadro 39-4** lista algunos de los genes de humano localizados usando estas técnicas; ahí sólo hay una muestra de genes mapeados, dado que decenas de miles de genes se han mapeado como resultado de la reciente secuenciación del genoma humano. Una vez que el defecto se localiza a una región de DNA que tiene la estructura típica de un gen, puede construirse una copia de cDNA sintética del gen, que únicamente contiene exones codificadores de mRNA, y se expresa en un vector apropiado, y es posible evaluar su función (o puede sintetizarse el péptido putativo, deducido a partir del cuadro de lectura abierto en la región codificadora). Anticuerpos dirigidos contra esta proteína o fragmentos peptídicos derivados de la misma pueden usarse para evaluar si esta

CUADRO 39-4 Localización de genes de ser humano[a]

Gen	Cromosoma	Enfermedad
Insulina	11p15	Diabetes
Prolactina	6p23-q12	Síndrome de Sheehan
Hormona del crecimiento	17q21-qter	Deficiencia de hormona de crecimiento
Globina α	16p12-pter	Talasemia α
Globina β	11p12	Talasemia β, células falciformes
Adenosina desaminasa	20q13-qter	Deficiencia de adenosina desaminasa
Fenilalanina hidroxilasa	12q24	Fenilcetonuria
Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa	Xq26-q27	Síndrome de Lesch-Nyhan
Segmento G8 del DNA	4p	Corea de Huntington

[a] Este cuadro indica la localización cromosómica de varios genes, y las enfermedades relacionadas con producción deficiente o anormal de los productos de gen. El primer número o letra indica el cromosoma afectado. Los otros números y letras se refieren a ubicaciones precisas, según se define en McKusick, VA; *Mendelian Inheritance in Man: Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive, and X-Linked Phenotypes*. Copyright © 1983 Johns Hopkins University Press. Reimpreso con autorización de la Johns Hopkins University Press.

proteína es expresada en personas normales, y si falta, o está alterada, en quienes tienen el síndrome genético.

Es posible producir proteínas para investigación, diagnóstico y comercio

Un objetivo práctico de la investigación sobre DNA recombinante es la producción de materiales para aplicaciones biomédicas. Esta tecnología tiene dos méritos, pues puede proporcionar: 1) grandes cantidades de material que no podrían obtenerse mediante métodos de purificación convencionales (p. ej., interferón, factor activador del plasminógeno hístico), y 2) proteínas humanas (p. ej., insulina, hormona de crecimiento). Las ventajas de ambos casos son obvias. Aun cuando el objetivo primario es proporcionar productos (por lo general proteínas) para tratamiento (insulina) y diagnóstico (pruebas para síndrome de inmunodeficiencia adquirida) de enfermedades de seres humanos y otros animales, y para prevención de enfermedad (vacuna contra el virus de la hepatitis B), hay otras aplicaciones comerciales potenciales, sobre todo en la agricultura. Un ejemplo de esto último es el intento de procesar plantas con procedimientos de ingeniería para que sean más resistentes a sequía o temperaturas extremas, tengan más eficiencia para la fijación de nitrógeno, o que produzcan semillas (arroz, trigo, maíz, etc.) que contengan la totalidad de los aminoácidos esenciales.

La tecnología de DNA recombinante se usa en el análisis molecular de enfermedad

Variaciones de gen normales

Hay una variación normal de la secuencia de DNA, de la misma manera que ocurre en otros aspectos más obvios de la estructura del ser humano. Las variaciones de la secuencia de DNA, **polimorfismos**, ocurren aproximadamente una vez cada 500 a 1 000 nucleótidos. Una comparación reciente de la secuencia de nucleótido del genoma de James Watson, el codescubridor de la estructura del DNA, identificó alrededor de 3 300 000 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en comparación con el genoma de referencia humano secuenciado inicialmente "estándar". Despierta interés que más de 80% de los SNP encontrados en el DNA de Watson ya se había identificado en otros individuos. También hay deleciones genómicas e inserciones de DNA (es decir, **variaciones del número de copias**; **CNV**), así como sustituciones de base única. En personas sanas, estas alteraciones obviamente suceden en regiones no codificadoras del DNA o en sitios que no se traducen en un cambio de la función de la proteína codificada. Este polimorfismo hereditario de la estructura del DNA puede relacionarse con ciertas enfermedades dentro de una familia grande, y puede emplearse para buscar el gen específico afectado, como se ilustra a continuación. También puede usarse en diversas aplicaciones en medicina forense.

Variaciones de gen que causan enfermedad

En la genética clásica se enseñaba que casi todas las enfermedades genéticas se debían a mutaciones puntuales que daban por resultado una proteína alterada. Esto aún puede ser cierto, pero si en la lectura de capítulos previos se predijo que la enfermedad genética podría sobrevenir por alteración de cualquiera de los pasos que llevan de la replicación a la transcripción y al procesamiento/transporte de RNA y síntesis de proteína, PTM y/o localización subcelular y estado físico (esto es, agregación y polimerización), se habría hecho una evaluación apropiada. Este punto se ilustra de nuevo muy bien por medio del examen del gen que codifica para la globina β; dicho gen está ubicado en una agrupación en el cromosoma 11 (**figura 39-7**), y en la **figura 39-8** se ilustra una versión expandida del gen. La producción defectuosa de globina β causa diversas enfermedades, y se debe a muchas lesiones diferentes en el gen que codifica para la globina β y alrededor del mismo (**cuadro 39-5**).

Mutaciones puntuales

El ejemplo clásico es la **enfermedad de células falciformes**, que se produce por mutación de una base única de las 3×10^9 en el genoma, una sustitución de T a A en el DNA, que a su vez suscita un cambio de A a U en el mRNA que corresponde al sexto codón del gen que codifica para la globina β. El codón alterado especifica para un aminoácido diferente (valina en lugar de ácido glutámico), y esto produce una anormalidad estructural de la molécula de globina β lo que conduce a agregación de hemoglobina y que los eritrocitos se conviertan en falciformes. Otras mutaciones puntuales en el gen que codifica para la globina β y alrededor del mismo ocasionan menor producción o, en algunos casos, producción nula, de globina β; la talasemia β es el resultado de estas mutaciones. (Las talasemias se caracterizan por defectos de la síntesis de subunidades de hemoglobina y, de este modo, sobreviene talasemia β cuando hay producción insuficiente de globina β). En la figura 39-8 se ilustra qué mutaciones puntuales que afectan a cada uno de los muchos procesos incluidos en la generación de un mRNA normal (y, por ende, una proteína normal) han quedado implicadas como una causa de talasemia β.

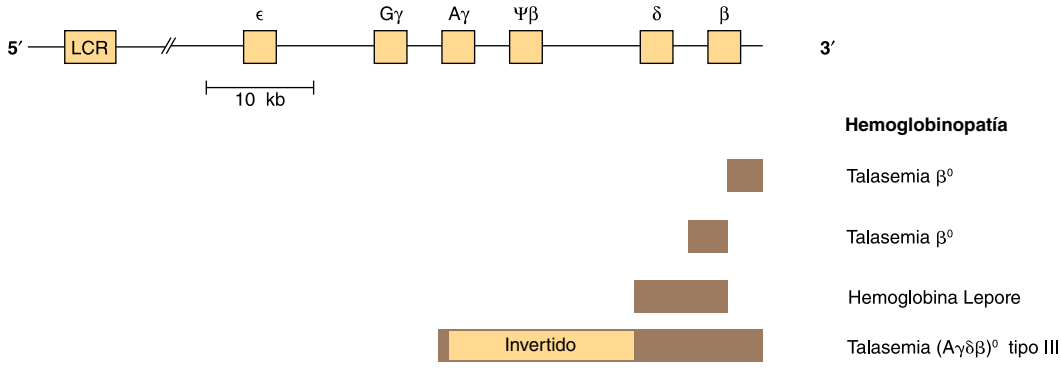


FIGURA 39-7 Representación esquemática de la agrupación de gen que codifica para la globina β, y de lesiones en algunos trastornos genéticos. El gen que codifica para la globina β está localizado en el cromosoma 11 en estrecha asociación con los dos genes que codifican para globina γ y el gen que codifica para globina δ. La familia del gen β está dispuesta en el orden 5′-ε-Gγ-Aγ-Ψβ-δ-β-3′. El *locus* ε se expresa en la vida embrionaria temprana (como $\alpha_2\varepsilon_2$). Los genes γ se expresan en el transcurso de la vida fetal y producen hemoglobina fetal (HbF, $\alpha_2\gamma_2$). La hemoglobina de adulto consta de HbA ($\alpha_2\beta_2$) o HbA 2 ($\alpha_2\delta_2$). El Ψβ es un seudogén que tiene homología de secuencia con β pero que contiene mutaciones que evitan su expresión. Una región de control de *locus* (LCR), un potente potenciador localizado torrente arriba (5′) desde el gen, controla el índice de transcripción de toda la agrupación del gen que codifica para globina β. Las deleciones (barra sólida) del *locus* β suscitan talasemia β (deficiencia o falta [β^0] de globina β). Una recombinación meiótica entre δ y β produce hemoglobina Lepore y resulta en deleción de DNA y fusiones de la secuencia δ-β, lo que reduce los niveles de HbB (figura 6-7 y 35-10). Una inversión $(A\gamma\delta\beta)^0$ en esta región (barra de mayor tamaño) altera la función de gen y ocasiona también talasemia (tipo III). Cada tipo de talasemia tiende a encontrarse en un cierto grupo de personas, por ejemplo, la inversión deleción $(A\gamma\delta\beta)^0$ ocurre en personas de India. Se han mapeado muchas más deleciones en esta región, y cada una se traduce en algún tipo de talasemia.

Deleciones, inserciones y reordenamientos de DNA

Estudios de bacterias, virus, levaduras, moscas de la fruta y ahora humanos, muestran que fragmentos de DNA pueden moverse de un lugar a otro dentro de un genoma. La deleción de un fragmento de DNA crucial, el reordenamiento de DNA dentro de un gen, o la inserción o amplificación de un fragmento de DNA dentro de una región codificadora o reguladora, pueden causar cambios de la expresión de gen que dan por resultado enfermedad. De nuevo, un análisis molecular de las talasemias produce muchos ejemplos de estos procesos (en especial deleciones) como causas de enfermedad (figura 39-7). Las agrupaciones del gen que codifica para globina parecen tener propensión particular a esta lesión. Las deleciones en la agrupación de globina α, localizada en el cromosoma 16, suscitan talasemia α. Hay una fuerte asociación étnica para muchas de estas deleciones, de manera que los habitantes del norte de Europa, los filipinos, los sujetos de raza negra, y los pueblos del Mediterráneo tienen diferentes lesiones que producen falta de hemoglobina A y talasemia α.

CUADRO 39-5 Alteraciones estructurales del gen que codifica para globina β

Alteración	Función afectada	Enfermedad
Mutaciones puntuales	Plegado de proteína	Enfermedad de células falciformes
	Control transcripcional	Talasemia β
	Mutaciones por cambio de cuadro o sin sentido	Talasemia β
	Procesamiento de RNA	Talasemia β
Deleción	Producción de mRNA	Talasemia β^0
		Hemoglobina Lepore
Reordenamiento	Producción de mRNA	Talasemia β tipo III

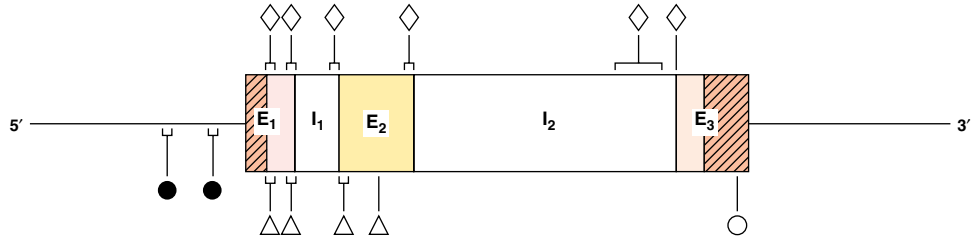


FIGURA 39-8 Mutaciones en el gen que codifica para globina β que dan por resultado talasemia β. El gen que codifica para la globina β se muestra en la orientación-5′ a 3′. Las áreas con trama indican las regiones 5′ y 3′ no traducidas. Leyendo desde la dirección 5′ hacia la 3′, las áreas sombreadas son los exones 1 a 3, y los espacios claros son los intrones 1 (I_1) y 2 (I_2). Las mutaciones que afectan el control de la transcripción (●) están localizadas en el DNA de la región 5′ flanqueante. Se han identificado ejemplos de mutaciones sin sentido (△), mutaciones en el procesamiento del RNA (◇) y mutaciones de división de RNA (○) y se indican. En algunas regiones se han hallado muchas mutaciones distintas, lo cual se representa por el tamaño y localización de los corchetes.

Podría hacerse un análisis similar para varias otras enfermedades. Las mutaciones puntuales por lo general se definen mediante secuenciación del gen en cuestión, aunque en ocasiones, si la mutación destruye o crea un sitio de enzima de restricción, la técnica de análisis de fragmento de restricción puede emplearse para identificar con exactitud la lesión. Las deleciones o inserciones de DNA de más de 50 bp a menudo se pueden detectar por medio del procedimiento de electrotransferencia Southern, mientras que los análisis basados en PCR pueden detectar cambios mucho más pequeños en la estructura del DNA.

Análisis de ascendencia

La enfermedad de células falciformes proporciona una vez más un excelente ejemplo de cómo la tecnología de DNA recombinante puede aplicarse al estudio de la enfermedad en humanos. La sustitución de T por A en la cadena plantilla de DNA en el gen que codifica para la globina β cambia la secuencia en la región que corresponde al sexto codón desde:

C C T G A G G Cadena codificadora
G G A C Ⓣ C C Cadena plantilla

hacia

↓
C C T G T G G Cadena codificadora
G G A C Ⓐ C C Cadena plantilla
↑

y destruye un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción *MstII* (CCTNAGG; denotada por las flechas verticales pequeñas; cuadro 39-1).

Otros sitios de *MstII* 5′ y 3′ desde este sitio (**figura 39-9**) no quedan afectados y, así, se cortarán. Por consiguiente, la incubación de DNA de sujetos normales (AA), heterocigotos (AS) y homocigotos (SS) ocasiona tres modelos diferentes en la electrotransferencia Southern (figura 39-9). Esto ilustra de qué modo puede establecerse la ascendencia de DNA usando los principios que se comentan en este capítulo. El análisis de la ascendencia se ha aplicado a diversas enfermedades genéticas, y es más útil en las que se producen por deleciones e inserciones o los más raros casos en los cuales hay afección de un sitio de división de endonucleasa de restricción, como en el ejemplo aquí citado. Esos estudios ahora se facilitan gracias a la reacción de PCR, que

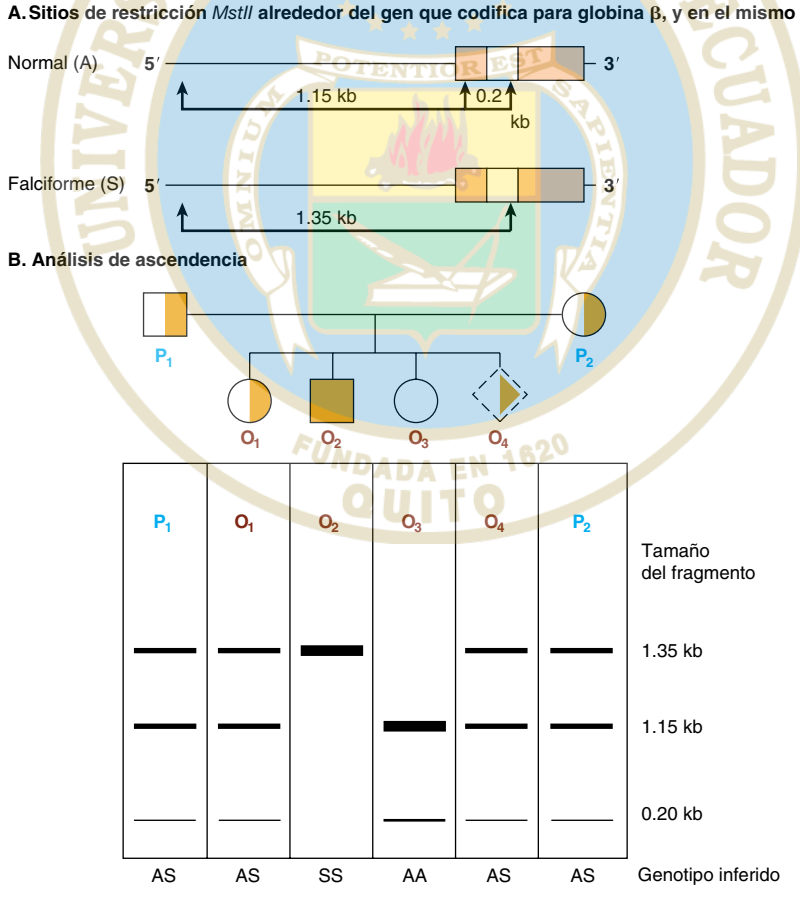


FIGURA 39-9 **Análisis de la ascendencia de la enfermedad de células falciformes.** La parte superior de la figura **(A)** muestra la primera parte del gen que codifica para globina β, y los sitios de enzima de restricción *MstII* en los genes que codifican para globina β normal (A) y de células falciformes (S). La digestión con la enzima de restricción *MstII* origina fragmentos de DNA de 1.15 kb y 0.2 kb de largo en sujetos normales. El cambio de T a A en personas con enfermedad de células falciformes suprime uno de los tres sitios *MstII* alrededor del gen que codifica para globina β; en consecuencia, se genera un fragmento de restricción único de 1.35 kb de largo en respuesta a *MstII*. Esta diferencia de tamaño se detecta con facilidad en una electrotransferencia Southern. **(B)** El análisis de árbol genealógico muestra tres posibilidades: AA, normal (círculo blanco); AS, heterocigoto (círculos con una mitad a color, cuadrado con una mitad a color); SS, homocigoto (cuadrado a color). Este método puede permitir el diagnóstico prenatal de enfermedad de células falciformes (cuadrado punteado ladeado). Véase el texto.

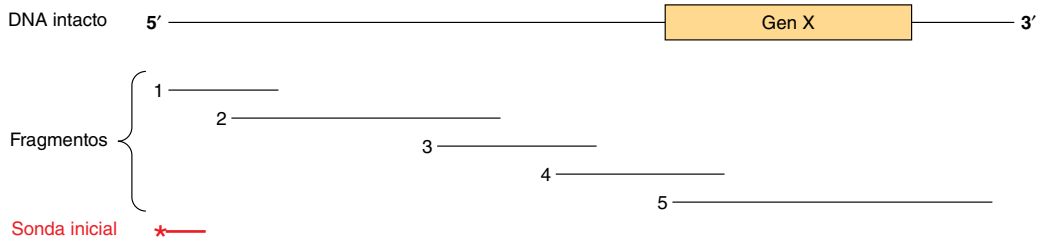


FIGURA 39-10 La técnica de caminata cromosómica. El gen X es aislado desde un fragmento grande de DNA. Se desconoce la ubicación precisa de este gen, pero se dispone de una sonda (*——) dirigida contra un fragmento de DNA (que se muestra en el extremo 5′ en esta representación), al igual que de una biblioteca de clonas que contiene una serie de fragmentos de inserto de DNA que se superponen. En aras de la sencillez, sólo se muestran cinco de ellos. La sonda inicial sólo se hibridará con clonas que contienen el fragmento 1, que entonces se puede aislar y usar como una sonda para detectar el fragmento 2. Este procedimiento se repite hasta que el fragmento 4 se hibrida con el fragmento 5, que contiene la secuencia completa del gen X. Un método conceptualmente similar de superposición de secuencia de DNA se usa para montar las lecturas de secuencia contigua generadas por NGS directa/secuenciación de alto rendimiento de fragmentos de DNA genómicos.

amplifica y, por tanto, proporciona suficiente DNA para análisis a partir de sólo algunas células nucleadas.

Diagnóstico prenatal

Si se entiende la lesión genética, y se dispone de una sonda específica, es posible el diagnóstico prenatal. El DNA de células recolectadas a partir de una cantidad tan pequeña como 10 mL de líquido amniótico (o por medio de biopsia de vellosidades coriónicas) puede analizarse mediante electrotransferencia Southern e incluso en volumen pequeño si se utiliza análisis con base en PCR. Un feto con el modelo de restricción AA en la figura 39-9 no tiene enfermedad de células falciformes ni es un portador. Un feto con el modelo SS presentará la enfermedad. Ahora se dispone de sondas para este tipo de análisis de muchas enfermedades genéticas.

Polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP) y polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)

Las diferencias en la secuencia de DNA antes citadas pueden dar por resultado variaciones de los sitios de restricción y, de esta manera, de la longitud de los fragmentos de restricción. De modo similar, los polimorfismos de nucleótido único, o **SNP,** pueden detectarse por medio del método de PCR sensible. Una diferencia hereditaria del modelo de digestión de enzima de restricción (p. ej., una variación del DNA que ocurre en más de 1% de la población general) se conoce como un **polimorfismo de longitud de fragmento de restricción**, (**RFLP**). Se han construido mapas extensos de RFLP y SNP del genoma humano. Esto ha resultado útil en el Human Genome Analysis Project, y es un componente de importancia del esfuerzo para entender diversas enfermedades de gen único y multigénicas. Los RFLP se producen por cambios de base única (p. ej., enfermedad de células falciformes), o por deleciones o inserciones (CNV) de DNA hacia un fragmento de restricción (p. ej., las talasemias) y han resultado ser instrumentos diagnósticos útiles. Se han hallado en *loci* de gen conocidos y en secuencias que no tienen función conocida; de esta manera, los RFLP pueden alterar la función del gen, o pueden no tener consecuencias biológicas manifiestas. Como se mencionó, 80% de los SNP en el genoma de un individuo conocido único ya se habían mapeado de modo independiente mediante los esfuerzos del componente de mapeo de SNP del International HapMap Project y ahora con el complemento de la secuenciación genómica.

Los RFLP y SNP son hereditarios, y se segregan de manera mendeliana. Un uso importante de SNP/RFLP estriba en la definición de enfermedades hereditarias en las cuales se desconoce el déficit funcional. Los SNP/RFLP pueden usarse para establecer grupos de enlace que, a su vez, por medio del proceso de **caminata cromosómica**, finalmente definirán el *locus* de la enfermedad. En la caminata cromosómica (**figura 39-10**), un fragmento que representa un extremo de un pedazo largo de DNA se usa para aislar otro que se superpone pero que extiende el primero. La dirección de la extensión se determina mediante mapeo de restricción, y el procedimiento se repite de modo secuencial en tanto no se obtiene la secuencia deseada. Se dispone en el comercio de colecciones de DNA genómicos del ser humano, BAC- o PAC-clonados mapeados, que se superponen. Los trastornos enlazados con el cromosoma X se prestan en especial al método de caminata cromosómica, porque sólo se expresa un alelo único. En consecuencia, 20% de los RFLP definidos está en el cromosoma X, y existe un mapa de enlace (y de secuencia genómica) completo de este cromosoma. El gen que codifica para el trastorno ligado a X, distrofia muscular tipo Duchenne, se encontró usando RFLP. De manera similar, el defecto en la enfermedad de Huntington se localizó en la región terminal del brazo corto del cromosoma 4, y el defecto que da por resultado enfermedad renal poliquística está enlazado al *locus* de la globina α en el cromosoma 16. La secuenciación genómica depende de esta "superposición" entre fragmentos de DNA secuenciados para montar secuencias de DNA genómicas completas.

Polimorfismos de DNA microsatélite

Unidades de DNA con repetición en tándem, hereditarias, cortas (2 a 6 bp) suceden aproximadamente 50 000 a 100 000 veces en el genoma humano (capítulo 35). Puesto que ocurren con mayor frecuencia (y en vista de la aplicación sistemática de métodos de PCR sensibles), han comenzado a reemplazar a los RFLP como los *loci* marcadores para diversas búsquedas en el genoma.

RFLP y VNTR en medicina forense

Los números variables de unidades repetidas en tándem (VNTR) son un tipo frecuente de "inserción" que origina un RFLP. Los VNTR pueden ser hereditarios, en cuyo caso son útiles para establecer asociación genética con una enfermedad en una familia o un clan, o pueden ser singulares para un individuo y, así, servir como una huella digital molecular de esa persona.

Secuenciación directa de DNA genómico

Como se mencionó, avances recientes en la tecnología de secuenciación de DNA, las denominadas plataformas de secuenciación de próxima generación (NGS), han reducido de modo notorio el costo de secuenciación de DNA por cada base. La secuencia inicial del genoma humano costó alrededor de $ 350 000 000 (EU); se estima que el costo de secuenciar el mismo genoma humano diploide de 3×10^9 bp usando las nuevas plataformas de NGS es de < 0.03% del original. Muy recientemente se ha desarrollado la tecnología para permitir la secuenciación del genoma humano por $1 000 (EU). Esta notoria disminución del costo ha estimulado diversas iniciativas internacionales para secuenciar los genomas enteros de miles de individuos de diversos trasfondos raciales y étnicos con el objeto de determinar la magnitud verdadera de polimorfismos de DNA/genoma presentes dentro de la población. La abundante información genética resultante y el costo siempre decreciente de la secuenciación de DNA genómico están incrementando de manera notoria la capacidad para diagnosticar y, finalmente, tratar, enfermedad en humanos. Obviamente, cuando la secuenciación del genoma personal se haga común, habrá cambios notorios en la práctica de la medicina, porque finalmente se harán terapias a la medida para la conformación genética exacta de cada individuo.

Terapia génica y biología de células madre

Las enfermedades causadas por deficiencia de un producto de gen único (cuadro 39-4) se prestan en teoría a terapia de reemplazo. La estrategia es clonar una copia normal del gen relevante (p. ej., el gen que codifica para la adenosina desaminasa) hacia un vector que será captado e incorporado con facilidad hacia el genoma de una célula huésped. Células precursoras de la médula ósea están bajo investigación con este propósito, porque probablemente se volverán a asentar en la médula y se replicarán ahí. El gen introducido empezaría a dirigir la expresión de su producto proteínico, lo cual corregiría la deficiencia en la célula huésped.

Como una alternativa para "reemplazar" genes defectuosos para curar enfermedad en seres humanos, muchos científicos están investigando la viabilidad de identificar y caracterizar células madre pluripotenciales, que tienen la capacidad para diferenciarse hacia cualquier tipo de célula en el cuerpo. Resultados recientes en este campo han mostrado que las células somáticas de ser humano adulto pueden convertirse con facilidad en **células madre pluripotenciales inducidas (iPSC)** evidentes por medio de transfección con cDNA que codifican para un puñado de factores de transcripción de unión a DNA. Estos avances y otros nuevos en los campos de la terapia génica y la biología de células madre prometen interesantes y nuevas terapias potenciales para curar enfermedades de humanos. Finalmente, la generación de iPSC a partir de células de paciente enfermas también ofrece la oportunidad de crear modelos auténticos para estudios de laboratorio de la base molecular de la enfermedad de humano.

Animales transgénicos

La terapia de reemplazo de gen de células somáticas ya descrita obviamente no se transmitiría hacia la descendencia. Se han ideado otras estrategias para alterar líneas de células germinales, pero sólo se han probado en animales de experimentación. Un cierto porcentaje de genes inyectados hacia un óvulo fecundado de ratón se incorporará hacia el genoma y se hallará en células tanto somáticas como germinales. Se han establecido cientos de animales transgénicos, y éstos son útiles para análisis de efectos específicos para tejido sobre la expresión de gen, y efectos de producción excesiva de productos de gen (p. ej., los del gen que codifica para hormona de crecimiento u oncogenes) y en el descubrimiento de genes involucrados en el desarrollo, proceso que hasta ahora ha sido difícil de estudiar en mamíferos. El método transgénico se ha usado para corregir una deficiencia genética en ratones. Óvulos fecundados obtenidos a partir de ratones con hipogonadismo genético se inyectaron con DNA que contenía la secuencia codificadora para la proteína precursora de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Este gen se expresó y reguló normalmente en el hipotálamo de un cierto número de los ratones resultantes, y estos animales fueron normales en todos los aspectos. Su descendencia tampoco mostró datos de deficiencia de GnRH; por ende, ésta es evidencia de expresión del transgén en células somáticas, y de su mantenimiento en células germinales.

Regulación de gen dirigida por alteración o deleción (*knockout*), añadidura/reemplazo de un gen (*knockin*), edición y expresión controlada

Varios avances técnicos han permitido la modificación dirigida, precisa, de genes de mamífero. Los métodos exactos usados para someter a procedimientos de ingeniería genética genomas de mamífero han evolucionado a partir de métodos tediosos, de baja eficiencia, basados en selecciones de fármaco positiva y negativa, y recombinación homóloga (deleción [*knockout*]/añadidura/reemplazo de un gen [*knockin*)]) al recién descrito sistema CRISPR-Cas9 ya descrito. El objetivo de todos estos métodos es finalmente generar una familia de variantes genéticas de un gen de interés que son: a) un alelo nulo o de pérdida de función completa; b) alelos recesivos, de pérdida de función, y c) en circunstancias ideales, alelos de ganancia de función dominantes. Estas alteraciones genéticas se generan en células madre pluripotentes, que finalmente permiten la introducción y la propagación en organismos modelo enteros (moscas, peces, gusanos, roedores, etc.). Tener las tres de estas variantes genéticas permite el análisis detallado y preciso del mecanismo de acción de cualquier gen. Sin embargo, el análisis genético de muchos genes se complica por el hecho de que su(s) función(es) es (son) esencial(es) para la viabilidad. Para solucionar este problema deben generarse variantes genéticas específicas para tipo de célula o para tejido. Este obstáculo se ha superado mediante el uso de potenciadores específicos para célula y específicos para tejido que pueden impulsar la expresión condicional (esto es, experimentalmente controlada)

de las recombinasas de direccionamiento (esto es, CRE-lox) y/o nucleasa (CRISPR-Cas) que generan los genes alterados, alelos nulos o de pérdida o ganancia de función. De manera alternativa, puede generarse pérdida de función seleccionada por medio de expresión de siRNA equivalente para disminuir (*knock down*) la producción de un producto de gen específico. Estos métodos, en conjunto, permiten pruebas genéticas y bioquímicas sofisticadas de la función de gen, y permiten a los científicos sondear la estructura y función de genes de mamíferos en contextos fisiológicos. Se ha obtenido, y se seguirá obteniendo, significativa información mecanicista molecular, acerca de la causa molecular de enfermedad del humano por medio de estos métodos bioquímicos y otros. ¡Tiempos apasionantes se avecinan!

Establecimiento de perfil de RNA y proteína, y mapeo de interacción proteína-DNA

La revolución "-ómica" del último decenio ha culminado en la determinación de las secuencias completas de nucleótido de decenas de miles de genomas, incluso las de levaduras gemantes y de fisión, muchas bacterias, la mosca de la fruta, el gusano *Caenorhabditis elegans*, vegetales, el ratón, rata, pollo, mono y, de forma más notable, seres humanos. Se están secuenciando genomas adicionales a un ritmo acelerado. La disponibilidad de toda esta información sobre secuencia de DNA, junto con avances de ingeniería, han llevado al desarrollo de varias metodologías revolucionarias, casi todas las cuales se basan en **tecnología de microarreglo de alta densidad** o plataformas de **secuenciación NGS**. En el caso de los microarreglos, ahora es posible depositar miles de secuencias de DNA definidas, conocidas, específicas, en una laminilla estilo portaobjetos para microscopio, u otro soporte inerte, en el espacio de algunos centímetros cuadrados. Al acoplar esos microarreglos de DNA con detección muy sensible de sondas de ácido nucleico marcadas con fluorescencia, hibridadas, derivadas de mRNA, los investigadores pueden generar con rapidez y precisión perfiles de expresión de gen (p. ej., contenido de mRNA celular específico) a partir de muestras de células y de tejidos de tamaño tan pequeño como 1 g o menos. De este modo, en sólo algunos días puede obtenerse con facilidad **información de transcriptoma** completa (la colección completa de RNA celulares) para esas fuentes célula o tejido. En el caso de la NGS, los mRNA son convertidos en cDNA usando transcripción inversa, y estos cDNA son amplificados mediante PCR y secuenciados de manera directa; este método se denomina **RNA-Seq**; tales métodos permiten la descripción cuantitativa de todo el transcriptoma. En reportes recientes en la literatura se ha usado RNA-Seq para describir el transcriptoma de células únicas, y cuando se acopla con proteómica basada en espectrometría de masa de alta sensibilidad (véase más adelante), se definen con confianza perfiles de expresión de gen.

Avances metodológicos recientes (**GRO-Seq**, secuenciación Global Run-On, y **NET-seq**, secuenciación de transcrito en alargamiento nativo) permiten la secuenciación de RNA dentro de complejos ternarios de RNA polimerasa-DNA-RNA en alargamiento, lo que permite descripciones en el ámbito de nucleótido, en el ámbito de genoma, de transcripción en células vivas. Esa información de transcritoma permite predecir de manera cuantitativa el conjunto de proteínas que podrían expresarse en una célula, un tejido u órgano particular en estados normales y de enfermedad con base en los mRNA presentes en esas células.

El desarrollo reciente de métodos para mapear la localización, u ocupación de proteínas específicas unidas a secuencias de DNA separadas dentro de células vivas, complementa los métodos de muy alto rendimiento, de establecimiento de perfil de transcrito antes descritos. Este método (**figura 39-11**) se denomina **inmunoprecipitación de cromatina (ChIP)**. Proteínas se unen con enlaces covalentes *in situ* en células o tejidos; la cromatina celular se aísla, se corta y complejos de proteína-DNA unidos por enlaces covalentes, específicos, se purifican usando anticuerpos que reconocen una proteína, o isoforma de proteína, particular. El DNA unido a esta proteína se recupera y amplifica usando PCR, y se analiza: sea usando electroforesis en gel, análisis de hibridación de microarreglo (**ChIP-chip**), o secuenciación directa. Hay dos versiones de la lectura de valoración de secuenciación de DNA. En la primera el DNA inmunopurificado es sujeto directamente a NGS/secuenciación de DNA de alto rendimiento (**ChIP-Seq**); en la segunda versión, el complejo de proteína-DNA inmunopurificado, unido por enlaces covalentes, es tratado con exonucleasas para eliminar secuencias de DNA que tengan enlaces covalentes, y que no estén en íntimo contacto con la proteína de interés; esto se denomina **ChIP-Exo**. En conjunto, los métodos de ChIP-chip y ChIP-Seq permiten a los investigadores identificar las ubicaciones de una proteína única en el ámbito del genoma en todos los cromosomas. El método de ChIP-Exo tiene la ventaja adicional de permitir a los investigadores mapear la ocupación de proteína *in vivo* a resolución en el ámbito de nucleótido único. Por último, se han desarrollado métodos para espectrometría de masa de muestras de metabolitos (**metabolómica**), diversas moléculas pequeñas (lípidos, **lipidómica**; carbohidratos, **glicómica**, etc.) y proteína complejas (**proteómica**), de alta sensibilidad, y de alto rendimiento. Los métodos de espectrometría de masa más nuevos permiten a los científicos identificar cientos a miles de proteínas en muestras complejas extraídas a partir de números muy pequeños de células (< 1 g). Esos análisis ahora pueden usarse para cuantificar las cantidades relativas de proteínas en dos muestras, así como las cifras de ciertas PTM, como fosforilación, acetilación, etc.; y con el uso de anticuerpos específicos, definir interacciones específicas entre una proteína y otra. Esta información crucial dice a los investigadores cuáles de los muchos mRNA detectados en estudios de mapeo de transcriptoma en realidad se traducen hacia proteína, por lo general el dictador final del fenotipo.

También se han ideado nuevos medios genéticos para identificar interacciones entre una proteína y otra, y la función de proteína. La disminución (*knockdown*) de la expresión de gen en el ámbito de genoma, sistemática, usando siRNA, investigaciones de interacción genética letal sintética, o más recientemente disminución (*knockdown*) con CRISPR-Cas9 se ha usado para evaluar la contribución de genes individuales a diversos procesos en sistemas modelo (levadura, gusanos y moscas) y células de mamífero (humano y ratón). Mapeos de red específicos de interacciones entre una proteína y otra en el ámbito de todo el genoma se han identificado usando variantes de alta capacidad de procesamiento de la prueba de **interacción de doble híbrido** (**figura 39-12**). Este método sencillo pero potente puede llevarse a cabo en bacterias, levaduras, o células de metazoario, y permite detectar inter-

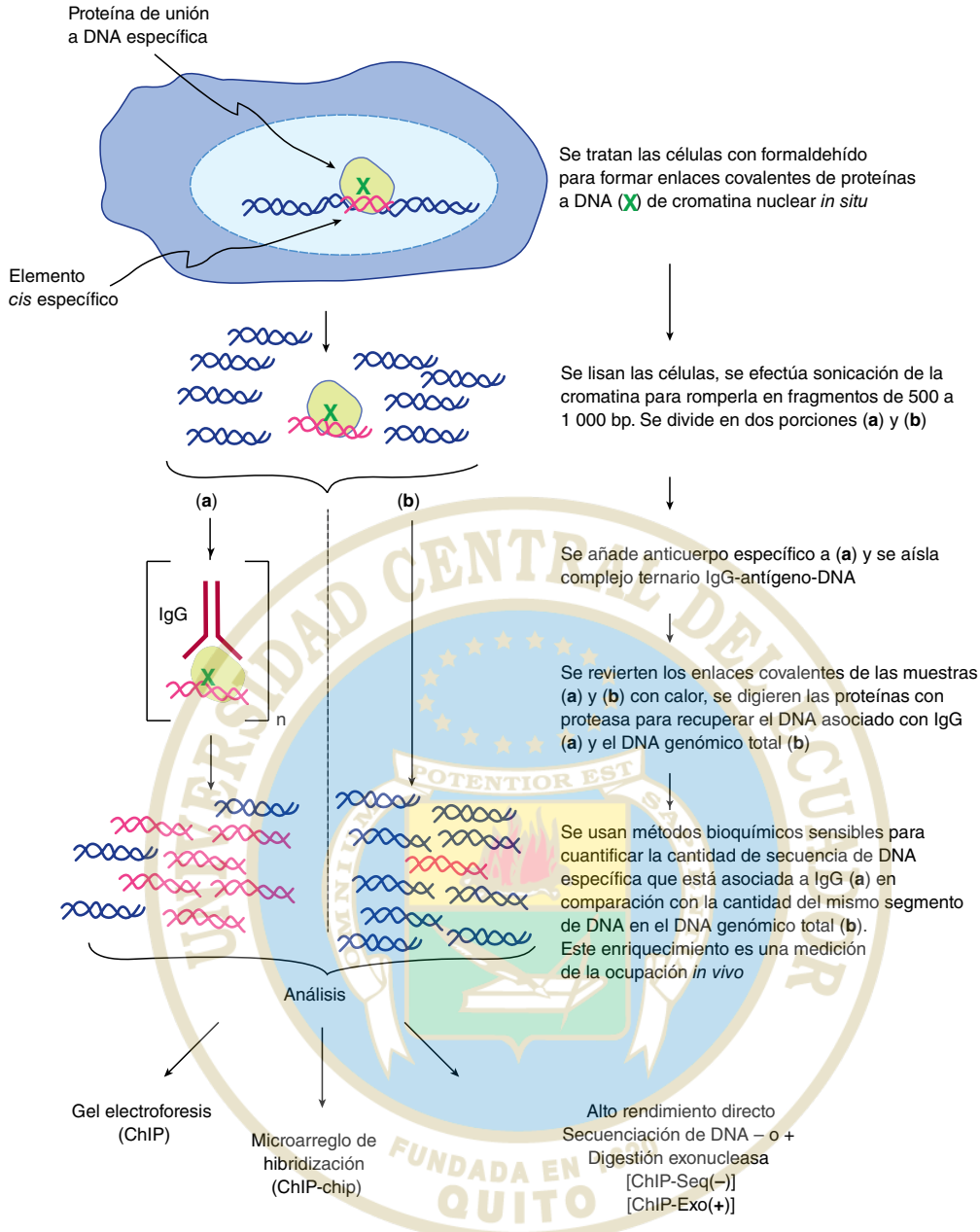


FIGURA 39-11 Esbozo de la técnica de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Este método permite la localización precisa de una proteína particular (o proteína modificada si se dispone de un anticuerpo apropiado; p. ej., histonas fosforiladas o acetiladas, factores de transcripción, etc.) o un elemento de secuencia particular en células vivas. Dependiendo del método usado para analizar el DNA inmunopurificado, puede obtenerse información cuantitativa o semicuantitativa, en un ámbito de resolución cercano a nucleótido. La ocupación de proteína-DNA puede calificarse en el ámbito de genoma de dos maneras. En primer lugar, mediante ChIP-chip, un método en el que se usa una lectura de salida de hibridación. En el ChIP-chip, el DNA genómico total es marcado con un fluoróforo particular y el DNA inmunopurificado es marcado con un fluoróforo distinto desde el punto de vista espectral. Estos DNA marcados de manera diferencial se mezclan e hibridan a "chips" de microarreglo (laminillas de microscopio) que contienen fragmentos de DNA específicos, o más comúnmente ahora, oligonucleótido sintético de 50 a 70 nucleótidos de largo. Estos oligonucleótidos específicos para el gen son depositados y fijados de manera covalente en coordenadas predeterminadas conocidas X,Y sobre la laminilla. Los DNA marcados se hibridan, las laminillas se lavan y la hibridación para cada sonda de oligonucleótido específica para el gen se califica usando examen con láser diferencial y fotodetección sensible a resolución de micrómetro. Las intensidades de señal de hibridación se cuantifican, y la proporción de señales de DNA IP/DNA genómico se usan para calificar niveles de ocupación. En el segundo método, llamado ChIP-seq, se secuencian directamente DNA inmunopurificados usando NGS/métodos de secuenciación profunda. Se muestran dos variantes de ChIP-Seq: ChIP-Seq "estándar" y ChIP-Exo. Estos dos métodos difieren en su capacidad para resolver y mapear las ubicaciones de la proteína unida sobre DNA genómico. La resolución de la ChIP-Seq estándar es de ~ ± 50 nt, mientras que la ChIP-Exo tiene resolución en el ámbito de cerca de nt única. Ambos métodos se fundamentan en algoritmos bioinformáticos eficientes para hacer frente a los conjuntos de datos muy grandes que se generan. Las técnicas ChIP-chip y ChIP-Seq proporcionan una medida (semi)cuantitativa de la ocupación de proteína *in vivo.* Aunque no se esquematiza aquí, métodos similares llamados RIP (inmunoprecipitación de RNA) o CLIP (formación de enlaces covalentes de proteína-RNA e inmunoprecipitación), que difieren principalmente en el método de formación de enlaces covalentes de proteína-RNA, pueden emitir una puntuación de la unión *in vivo* de proteínas específicas a especies de RNA específicas (típicamente mRNA), aunque cualquier especie de RNA se puede analizar mediante estas técnicas).

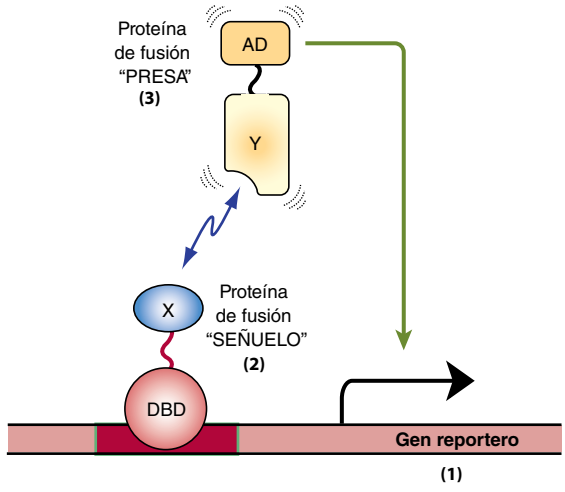


FIGURA 39-12 Perspectiva general de sistema doble híbrido para identificar y caracterizar interacciones entre una proteína y otra. Se muestran los componentes y la operación básicos del sistema doble híbrido, originalmente ideado por Fields y Song (*Nature* 340:245-246 [1989]) para funcionar en el sistema de levadura para hornear. **(1)** Un gen reportero, sea un marcador seleccionable (esto es, un gen que confiere crecimiento prototípico en medios selectivos, o que produce una enzima para la cual existe una valoración colorimétrica de colonia, como β-galactosidasa) que sólo se expresa cuando un factor de transcripción se une torrente arriba a un potenciador enlazado a *cis* (barra de color rojo oscuro). **(2)** Una proteína de fusión "señuelo" **(DBD-X)** producida a partir de un gen quimérico que expresa un dominio de unión a DNA (**DBD**; que suele derivarse de la proteína Gal 4 de levadura o la proteína Lex A bacteriana, ambas proteínas de unión a DNA con afinidad alta y especificidad alta) modular fusionado en cuadro a una proteína de interés, aquí X. En experimentos doble híbrido, se está probando si alguna proteína puede interactuar con la proteína X. La proteína X presa puede fusionarse en su totalidad o a menudo de manera alternativa sólo una parte de la proteína X se expresa en cuadro con el DBD. **(3)** Una proteína "presa" **(Y-AD)**, que representa una fusión de una proteína específica fusionada en cuadro con un dominio de activación transcripcional (**AD**; que suele derivarse de la proteína VP16 del virus del herpes simple o la proteína Gal 4 de levadura). Este sistema sirve como una prueba útil de interacciones entre una proteína y otra entre las proteínas X y Y porque en ausencia de una unión de transactivador funcional al potenciador indicado, no sucede transcripción del gen reportero (véase la figura 38-16). Así, sólo se observa transcripción si ocurre interacción entre las proteínas X y Y, lo que da un AD funcional para la unidad de transcripción enlazada a *cis*, en este caso, activando la transcripción del gen reportero. En este escenario, la proteína DBD-X sola no activa la transcripción del reportero porque el dominio X fusionado al DBD no contiene un AD. De manera similar, la proteína Y-AD sola no activa la transcripción de gen reportero porque carece de un DBD para dirigir la proteína Y-AD hacia el gen potenciador-promotor-reportero. Sólo cuando ambas proteínas se expresan en una sola célula y se unen al potenciador y, mediante interacciones entre una proteína y otra DBD-X-Y-AD, regeneran una "proteína" binaria transactivadora funcional, la transcripción del gen reportero suscita activación de la síntesis de mRNA (línea desde AD hacia el gen reportero).

acciones específicas entre una proteína y otra en células vivas. Experimentos de reconstrucción indican que con este método se pueden detectar fácilmente las interacciones entre una proteína y otra con afinidades de K_d ~10^{-6} mol/L o más estrechas. Juntas, estas tecnologías proporcionan nuevos y potentes recursos con los cuales disecar los pormenores de las propiedades biológicas del humano.

LA BIOLOGÍA DE SISTEMAS SE DIRIGE A INTEGRAR LA GRAN CANTIDAD DE DATOS DE -ÓMICA PARA DESCIFRAR PRINCIPIOS REGULADORES BIOLÓGICOS FUNDAMENTALES

Las técnicas de microarreglo, la secuenciación de DNA genómica de alto rendimiento, la disminución (*knockdown*) genética doble híbrido, en el ámbito del genoma, ChIP-Seq, e investigaciones letales sintéticas acopladas con experimentos de identificación de proteínas y metabolitos por espectrometría de masas, han llevado a la generación de enormes cantidades de datos. El manejo de datos apropiado y la interpretación de la avalancha de información futura a partir de ese tipo de estudios se han fundamentado en la aplicación de métodos estadísticos y algoritmos nuevos para analizar o "explotar" y visualizar esos enormes conjuntos de datos, y ha llevado al desarrollo del campo de la **bioinformática** (capítulo 11). Estas nuevas tecnologías, junto con la enorme cantidad de datos experimentales, han llevado más al desarrollo del campo de la **biología de sistemas**, una disciplina cuyo objetivo es analizar cuantitativamente, e integrar esta avalancha de información biológicamente importante. La investigación futura en la intersección de la bioinformática, la ingeniería, la biofísica, genética, establecimiento de perfiles de transcrito-proteína/PTM, y biología de sistemas, revolucionarán el entendimiento de la fisiología y la medicina y finalmente la salud humana.

RESUMEN

- En la clonación de DNA, un segmento particular de DNA es sintetizado directamente, o es eliminado de su ambiente normal usando PCR o una de las muchas endonucleasas dirigidas por DNA. Ese tipo de DNA a continuación es ligado hacia un vector en el cual el segmento de DNA se puede amplificar y producir en abundancia.
- La manipulación del DNA para cambiar su estructura, llamada ingeniería genética, es un elemento clave en la clonación (p. ej., la construcción de moléculas químericas), y puede usarse también para estudiar la función de un cierto fragmento de DNA, y para analizar cómo están regulados los genes.

- Diversas técnicas muy sensibles ahora pueden aplicarse al aislamiento y la caracterización de genes, y a la cuantificación de productos de genes en modos tanto estático (esto es, equilibrio) como dinámico (cinético). Estos métodos permiten la identificación de los genes de los cuales dependen enfermedades, y el estudio de cómo los genes/la regulación de genes, defectuosos, causan enfermedades.
- Los genomas de mamífero ahora pueden ser objeto de procedimientos de ingeniería con precisión para añadir/reemplazar (*knockin*), efectuar deleción o desactivar (*knockout*) y/o manipular de manera activa y condicional genes específicos usando nuevas enzimas de edición de genoma (recombinasas) y sistemas de enzima-RNA (CRISPR-Cas).

REFERENCIAS

Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, *et al*: The 1000 Genomes Project Consortium. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. Nature 2012;491:56-65.

Brass AL, Dykxhoorn DM, Benita Y, *et al*: Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. Science 2008;319:921.

Churchman LS, Weissman JS: Nascent transcript sequencing visualizes transcription at nucleotide resolution. Nature 2011;469:368-373.

Core LJ, Waterfall JJ, Lis JT: Nascent RNA sequencing reveals widespread pausing and divergent initiation at human promoters. Science 2008;322:1845-1848.

Costanzo M, Baryshnikova A, Myers CL, *et al*: Charting the genetic interaction map of a cell. Curr Opin Biotechnol 2011 Feb;22(1):66-74.

Deng Q, Ramsköld D, Reinius B, *et al*: Single-cell RNA-seq reveals dynamic, random monoallelic gene expression in mammalian cells. Science 2014;343:193-196.

Denny JC, Bastarache L, Ritchie MD, *et al*: Systematic comparison of phenome-wide association study of electronic medical record data and genome-wide association study data. Nat Biotechnol 2013;31:1102-1111.

Gandhi TK, Zhong J, Mathivanan S, *et al*: Analysis of the human protein interactome and comparison with yeast, worm and fly interaction datasets. Nat Genet 2006;38:285.

Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, *et al*: Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science 2010;329:52-56.

Gilchrist DA, Fargo DC, Adelman K: Using ChIP-chip and ChIP-seq to study the regulation of gene expression: genome-wide localization studies reveal widespread regulation of transcription elongation. Methods 2009;48:398-408.

Green, MR, Sambrook J: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012.

Horvath P, Barrangou R: CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. Science 2010;327:167-170.

Isaacs FJ, Carr PA, Wang HH, *et al*: Precise manipulation of chromosomes in vivo enables genome-wide codon replacement. Science 2011;333:348-353.

Kodzius R, Kojima M, Nishiyori H, *et al*: CAGE: cap analysis of gene expression. Nat Meth 2006;3:211-222.

Liebler DC, Zimmerman LJ: Targeted quantitation of proteins by mass spectrometry. Biochemistry 2013;52:3797-3806.

Martin JB, Gusella JF: Huntington's disease: pathogenesis and management. N Engl J Med 1986;315:1267.

Myers RM, Stamatoyannopoulos J, Snyder M, *et al*: A user's guide to the encyclopedia of DNA elements (ENCODE). PLoS Biol 2011;9:e1001046.

Petrocca F, Altschuler G, Tan SM, *et al*: A genome-wide siRNA screen identifies proteasome addiction as a vulnerability of basal-like triple-negative breast cancer cells. Cancer Cell 2013;24:182-196.

Sampson TR, Weiss DS: Exploiting CRISPR/Cas systems for biotechnology. Bioessays 2014;36:34-38.

Plass C, Pfister SM, Lindroth AM, *et al*: Mutations in regulators of the epigenome and their connections to global chromatin patterns in cancer. Nat Rev Genet. 2013 Nov;14(11):765-780.

Rhee HS, Pugh BF: Comprehensive genome-wide protein-DNA interactions detected at single-nucleotide resolution. Cell 2011;147:1408-1419.

Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al*: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 2007;131:861.

Telese F, Gamliel A, Skowronska-Krawczyk D: "Seq-ing" insights into the epigenetics of neuronal gene regulation. Neuron 2013;77:606-623.

Wang L, Wheeler DA: Genomic sequencing for cancer diagnosis and therapy. Ann Rev Medicine 2014;65:25.1-25.16.

Wang T, Wei JJ, Sabatini, DM, Lander ES: Genetic screens in human cells using the CRISPR-Cas9 system. Science 2014;343:80-84.

Weatherall DJ: *The New Genetics and Clinical Practice,* 3rd ed. Oxford University Press, 1991.

Wernig M, Meissner A, Foreman R, *et al*: In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. Nature 2007;448:318.

Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, *et al*: The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. Nature 2008;451:872.

GLOSARIO

ARS: secuencia replicante de manera autónoma; el origen de la replicación en levaduras.

Autorradiografía: la detección de moléculas radiactivas (p. ej., DNA, RNA, proteína) mediante visualización de sus efectos sobre película fotográfica o de rayos X.

Bacteriófago: un virus que infecta a una bacteria.

Biblioteca: colección de fragmentos clonados que representa, en conjunto, todo el genoma. Las bibliotecas pueden ser DNA genómico (en el cual están representados tanto los intrones como los exones) o cDNA (en el cual sólo están representados los exones).

CAGE: análisis de capucha o casquete de la expresión génica. Un método que permite la captura, amplificación, clonación y secuenciación selectivas de mRNA por medio de la estructura cubierta (capucha) 5′.

cDNA: una molécula de DNA monocatenario que es complementaria a una molécula de mRNA, y se sintetiza a partir de la misma por medio de la acción de transcriptasa inversa.

chIP, inmunoprecipitación de cromatina: una técnica que permite la determinación de la ubicación exacta de una proteína, o isoforma de proteína, particular, en cualquier ubicación genómica particular en una célula viva. El método se basa en el entrecruzamiento de células vivas, alteración de células, fragmentación del DNA, e inmunoprecipitación con anticuerpos específicos que codifican la proteína cognada enlazada de manera covalente a DNA. Los enlaces covalentes son revertidos, el DNA asociado es purificado, y las secuencias específicas que son purificadas se miden usando cualquiera de varios métodos diferentes.

ChIP-chip, inmunoprecipitación de cromatina analizada por medio de una lectura de salida de hibridación de chip de microarreglo: Un método basado en hibridación en el que se usan técnicas de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) para mapear, en el ámbito del genoma, los sitios de unión *in vivo* de proteínas

específicas dentro de cromatina en células vivas. La unión de secuencia se determina mediante calentamiento y enfriamiento (*annealing*) de muestras de DNA marcado con fluorescencia a microarreglos (arreglo).

ChIP-Exo, inmunoprecipitación de cromatina valorada por medio de una NGS/lectura de secuenciación profunda después de tratamiento de complejos de proteína-DNA inmunoprecipitados con exonucleasas. Una variación de ChIP-Seq (véase más adelante) que permite precisión en el ámbito de nucleótido en el mapeo y la descripción de elementos cis de DNA unidos por una proteína particular.

ChIP-Seq, inmunoprecipitación de cromatina valorada por medio de una lectura de secuenciación de NGS: localización de unión de DNA genómico en un ChIP determinado mediante secuenciación de alto rendimiento, en lugar de hibridación con microarreglos.

CLIP: un método en el que se usan formación de enlaces covalentes UV para inducir fijación covalente de proteínas separadas a RNA específicos *in vivo*. Los RNA que están unidos a proteína después se pueden purificar a partir de lisados de células mediante inmunoprecipitación y secuenciación subsiguiente.

Clona: un gran número de organismos, células o moléculas que son idénticas con un organismo, célula o molécula progenitor único.

Código epigenético: los modelos de modificación de DNA cromosómico (esto es, metilación de citocina) y modificaciones postraduccionales de histona nucleosómica. Estos cambios del estado de modificación pueden llevar a alteraciones notorias de la expresión de gen. Aun así, es notable que la secuencia de DNA subyacente real involucrada no cambia.

Cósmido: un plásmido hacia el cual se han insertado las secuencias de DNA del bacteriófago lambda que son necesarias para la aglomeración de DNA (sitios cos); esto permite que el DNA del plásmido se aglomere *in vitro*.

CRISPER/Cas: un "sistema inmune" procarionte que confiere resistencia a genes externos provenientes de bacteriófagos. Este sistema proporciona una versión bacteriana de inmunidad adquirida. El RNA derivado de espaciador CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas regularmente interespaciadas, agrupadas [*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*]) se combina con la nucleasa Cas para dirigir y dividir específicamente el DNA de fago invasor, lo que desactiva estos genomas invasores y protege a la bacteria contra infección por fago productiva y lisis.

DNA con extremo pegajoso: cadenas únicas complementarias de DNA que sobresalen desde extremos opuestos de un DNA dúplex o forman los extremos de diferentes moléculas dúplex (véase también DNA con extremo romo).

DNA con extremo romo: dos cadenas de un DNA dúplex que tienen extremos que están alineados entre sí.

DNA recombinante: el DNA alterado que se produce por la inserción de una secuencia de desoxinucleótidos no previamente presente, hacia una molécula de DNA existente, por medios enzimáticos o químicos.

Electrotransferencia Northern: un método para transferir RNA desde un gel de agarosa o de poliacrilamida hacia un filtro de nitrocelulosa, en el cual el RNA puede detectarse mediante una sonda idónea.

Electrotransferencia Southern: método para transferir DNA desde un gel de agarosa hacia filtro de nitrocelulosa, en el cual el DNA se puede detectar mediante una sonda idónea (p. ej., DNA o RNA complementario).

Electrotransferencia Southwestern: método para detectar interacciones entre proteína y DNA al aplicar una sonda de DNA marcada a una membrana de transferencia que contiene una proteína renaturalizada.

Electrotransferencia Western: método para transferir proteína hacia un filtro de nitrocelulosa, en el cual la proteína se puede detectar mediante una sonda idónea (p. ej., un anticuerpo).

Empalme: la eliminación de intrones del RNA, acompañada por la unión de sus exones.

Empalmeosoma: el complejo macromolecular que se encarga del empalme de mRNA precursor. El empalmeosoma consta de al menos 5 RNA nucleares pequeños (snRNA; U1, U2, U4, U5 y U6) y muchas proteínas.

ENCODE Project: Encyclopedia of DNA Elements Project; un esfuerzo de múltiples laboratorios de todo el mundo para proporcionar una representación detallada, informativa desde el punto de vista bioquímico, del genoma humano usando métodos de secuenciación de alta capacidad de procesamiento para identificar y catalogar los elementos funcionales dentro del genoma humano.

Endonucleasa: una enzima que divide enlaces internos en el DNA o el RNA.

Enzima de restricción: una endodesoxinucleasa que ocasiona división de ambas cadenas de DNA en sitios muy específicos dictados por la secuencia de bases.

Escinucleasa: la nucleasa de escisión comprendida en la reparación de DNA por intercambio de nucleótido.

Establecimiento de huella digital: el uso de RFLP o de DNA de secuencia de repetición para establecer un modelo único de fragmentos de DNA para un individuo.

Establecimiento de huella digital del pie: el DNA con proteína unida es resistente a digestión por enzimas DNasa. Cuando se realiza una reacción de secuenciación usando ese DNA, se detectará un área protegida, que representa la "huella digital del pie" de la proteína unida, porque las nucleasas son incapaces de dividir el DNA directamente unido por la proteína.

Exoma: la secuencia de nucleótidos de todos los exones de mRNA expresados en una célula, tejido, órgano u organismo particular. El exoma difiere del transcriptoma, que representa la totalidad de transcritos de genoma; el exoma representa un subgrupo de secuencias de RNA que componen el transcriptoma.

Exón: la secuencia de un gen que se representa (expresa) como mRNA.

Exonucleasa: enzima que divide nucleótidos desde los extremos 3′ o 5′ del DNA o RNA.

FISH: hibridación *in situ* fluorescente, método que se usa para mapear la ubicación de secuencias de DNA específicas dentro de núcleos fijos.

GRO-Seq, secuenciación Global Run-on: un método en el cual transcritos nacientes son captados de manera específica y secuenciados usando secuenciación de nueva generación (NGS)/secuenciación profunda. Este método permite el mapeo de la ubicación de complejos de transcripción activos.

Hibridación: la reasociación específica de cadenas complementarias de ácidos nucleicos (DNA con DNA, DNA con RNA, o RNA con RNA).

Horquilla: un tramo de doble hélice constituido por formación de pares de bases entre secuencias complementarias vecinas de una cadena única de DNA o RNA.

Inserto: un tramo adicional de pares de bases en el DNA, por lo general introducido mediante las técnicas de tecnología de DNA recombinante.

Intrón: la secuencia de un gen que codifica para mRNA que se transcribe pero que se escinde antes de la traducción. Los genes que codifican para tRNA también pueden contener intrones.

Ligadura: la unión catalizada por enzima en enlace fosfodiéster de dos tramos de DNA o RNA hacia uno; las enzimas respectivas son DNA y RNA ligasas.

Líneas: secuencias repetidas entremezcladas largas.

miRNA: microRNA, especies de RNA de 21 a 22 nucleótidos de largo derivadas a partir de unidades de transcripción de RNA polimerasa II, de 500 a 1 500 bp de longitud por medio de procesamiento de RNA. Se cree que estos RNA, recién descubiertos, desempeñan funciones cruciales en la regulación de gen mediante alterar la función del mRNA.

Molécula quimérica: una molécula (p. ej., DNA, RNA, proteína) que contiene secuencias derivadas de dos especies diferentes.

NET-seq, secuenciación de alargamiento nativo: análisis en el ámbito de genoma de extremos 3′ de cadena naciente de mRNA eucarionte mapeados a resolución en el ámbito de nucleótido. Los complejos de alargamiento de RNA polimerasa II son captados por medio de inmunopurificación con IgG anti-Pol II, y RNA nacientes que contienen un grupo 3′OH libre son marcados por medio de ligadura con un enlazador de RNA y después amplificados mediante PCR y sujetados a secuenciación profunda.

Oligonucleótido: una secuencia corta y definida de nucleótidos unidos entre sí en el enlace fosfodiéster típico.

Ori: el origen de replicación de DNA.

PAC: un vector de clonación de alta capacidad (70 a 95 kb) basado en el bacteriófago P1 de *E. coli* lítico que se replica en bacterias como un elemento extracromosómico.

Palíndromo: secuencia de DNA dúplex que es la misma cuando las dos cadenas se leen en direcciones opuestas.

Plásmido: pequeña molécula circular, extracromosómica, de DNA, que se replica de modo independiente del DNA huésped.

Polimorfismo microsatélite: heterocigosidad de una cierta repetición microsatélite en un individuo.

Primosoma: el complejo móvil de helicasa y primasa que está involucrado en la replicación del DNA.

Proteoma: la colección completa de proteínas expresadas en un organismo.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR): método enzimático para el copiado repetido (y, de esta manera, la amplificación) de las dos cadenas de DNA que constituyen una secuencia de gen particular.

RIP: un método de inmunoprecipitación de RNA, efectuado como ChIP, que se usa para asignar una puntuación a la unión específica de una proteína a un RNA específico *in vivo*. En la RIP se usa formación de enlaces covalentes de formaldehído para inducir fijación covalente de proteínas a RNA (véase también CLIP).

RNA-Seq: un método en el cual poblaciones de RNA celular son convertidas, por medio de ligadura a enlazador y PCR, en cDNA que a continuación quedan sujetos a secuenciación profunda para determinar la secuencia completa de esencialmente todos los RNA en la preparación.

RT-PCR: método usado para cuantificar las concentraciones de mRNA, que se fundamenta en un primer paso de copia de cDNA de mRNA catalizado por la transcriptasa inversa antes de amplificación con PCR y cuantificación.

Secuencias de repetición microsatélite: secuencias de repetición dispersas o en grupo, de 2 a 5 bp repetidas hasta 50 veces. Pueden suceder en 50 000 a 100 000 ubicaciones en el genoma.

Señal: el producto terminal observado cuando una secuencia específica de DNA o RNA se detecta mediante autorradiografía o algún otro método. Generalmente se usa hibridación con un polinucleótido radiactivo complementario (p. ej., por medio de electrotransferencia Southern o Northern) para generar la señal.

Seudogén: un segmento de DNA inactivo que surge por mutación de un gen activo progenitor; típicamente se genera por transposición de una copia de cDNA de un mRNA.

Sines: secuencias de repetición entremezcladas cortas.

SiRNA: RNA silenciadores, de 21 a 25 nt de longitud, generados por degradación nucleolítica selectiva de RNA bicatenarios de origen celular o viral. Los siRNA se renaturalizan a diversos sitios específicos dentro del blanco en RNA que conducen a degradación de mRNA, de ahí el nombre "noqueo *(knock-down)* de gen".

SNP: polimorfismo de nucleótido único. Se refiere al hecho de que la variación genética de nucleótido único en la secuencia del genoma existe en *loci* separados en todos los cromosomas. La medición de diferencias de SNP alélicas es útil para estudios de mapeo de gen.

snRNA: RNA nuclear pequeño. Esta familia de RNA se conoce mejor por su función en el procesamiento de mRNA.

Sonda: una molécula usada para detectar la presencia de un fragmento de DNA o RNA específico en, por ejemplo, una colonia de bacterias que se forma a partir de una biblioteca genética o durante análisis por medio de técnicas de electrotransferencia; las sondas comunes son moléculas de cDNA, oligodesoxinucleótidos sintéticos de secuencia definida o anticuerpos contra proteínas específicas.

Tándem: usado para describir múltiples copias de la misma secuencia (p. ej., DNA) que yacen adyacentes entre sí.

Terminal transferasa: enzima que añade nucleótidos de un tipo (p. ej., residuos desoxiadenonucleotidilo) al extremo 3′ de cadenas de DNA.

Traducción: síntesis de proteína usando mRNA como plantilla.

Traducción de muesca: técnica para marcar DNA que se basa en la capacidad de la DNA polimerasa de *E. coli* para degradar una cadena de DNA que se ha mellado, y después para volver a sintetizar la cadena; si se emplea un nucleósido trifosfato radiactivo, la cadena reconstruida queda marcada y puede usarse como una sonda radiactiva.

Transcripción: síntesis de ácidos nucleicos dirigida por DNA plantilla; típicamente síntesis de RNA dirigida por DNA.

Transcripción inversa: síntesis de DNA dirigida por RNA, catalizada por la transcriptasa inversa.

Transcriptoma: la colección completa de mRNA expresados en un organismo, célula, tejido u órgano; incluye mRNA y ncRNA.

Transgénico: describe la introducción de DNA nuevo hacia células germinales por medio de su inyección hacia el núcleo del huevo.

Variación del número de copias (CNV): cambio del número de copias de regiones de DNA genómicas específicas entre dos o más sujetos. Las CNV pueden ser tan grandes como de 10^6 bp de DNA, e incluir deleciones o inserciones.

Vector: un plásmido o bacteriófago hacia el cual puede introducirse DNA extraño para los propósitos de clonación.

Preguntas de examen

Sección VII. Estructura, función y replicación de macromoléculas informacionales

1. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de derivados β,γ-metileno y β,γ-imino de trifosfatos de purina y pirimidina es CORRECTA?
   A. Son fármacos anticáncer potenciales.
   B. Son precursores de vitaminas B.
   C. Pasan fácilmente por eliminación hidrolítica del fosfato terminal.
   D. Pueden usarse para implicar participación de nucleótido trifosfatos por efectos que no son transferencia de fosforilo.
   E. Sirven como precursores de polinucleótido.

2. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de las estructuras de nucleótido es INCORRECTA?
   A. Los nucleótidos son ácidos polifuncionales.
   B. La cafeína y la teobromina difieren estructuralmente sólo respecto al número de grupos metilo fijos a sus nitrógenos en anillo.
   C. Los átomos de la porción anillo de purina de pirimidinas se numeran en la misma dirección que los de una pirimidina.
   D. El NAD^+, FMN, "metionina activa" y coenzima, son derivados de ribonucleótidos.
   E. El AMP y GMP 3′,5′-cíclicos (cAMP y cGMP) sirven como segundos mensajeros en bioquímica de humanos.

3. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del metabolismo de nucleótidos de purina es INCORRECTA?
   A. Un paso temprano en la biosíntesis de purina es la formación de PRPP (fosforribosil 1-pirofosfato).
   B. La inosina monofosfato (IMP) es un precursor tanto del AMP como del GMP.
   C. El ácido orótico es un intermediario en la biosíntesis de nucleótido de pirimidina.
   D. Los humanos catabolizan la uridina y seudouridina mediante reacciones análogas.
   E. La ribonucleótido reductasa convierte nucleósido difosfatos en los desoxirribonucleósido difosfatos correspondientes.

4. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen es INCORRECTA?
   A. Los trastornos metabólicos sólo rara vez se asocian con defectos del catabolismo de purinas.
   B. Las disfunciones inmunitarias se asocian tanto con una adenosina desaminasa defectuosa como con una purina nucleósido fosforilasa defectuosa.
   C. El síndrome de Lesch-Nyhan refleja un defecto de la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa.
   D. La litiasis por xantina puede deberse a un defecto grave de la xantina oxidasa.
   E. La hiperuricemia puede producirse por enfermedades como cáncer que se caracterizan por aumento del recambio tisular.

5. ¿Cuáles de los componentes que siguen se encuentran en el DNA?
   A. Un grupo fosfato, adenina y ribosa.
   B. Un grupo fosfato, guanina y desoxirribosa.
   C. Citosina y ribosa.
   D. Timina y desoxirribosa.
   E. Un grupo fosfato y adenina.

6. El esqueleto de una molécula de DNA está compuesto ¿de cuál de los que siguen?
   A. Azúcares y bases nitrogenadas alternantes.
   B. Bases nitrogenadas solas.
   C. Grupos fosfato solos.
   D. Grupos fosfato y azúcar alternantes.
   E. Azúcares de cinco carbonos solos.

7. Los enlaces que se interconectan, que conectan los nucleótidos de RNA y DNA se denominan:
   A. Enlaces *N*-glucosídicos.
   B. Enlaces 3′-5′-fosfodiéster.
   C. Fosfomonoésteres.
   D. Enlace 2′-fosfodiéster.
   E. Enlaces de ácido nucleico peptídico.

8. ¿Cuál componente del dúplex RNA hace que la molécula tenga una carga negativa a pH fisiológico?
   A. Desoxirribosa.
   B. Ribosa.
   C. Grupos fosfato.
   D. Ion cloro.
   E. Adenina.

9. ¿Cuál característica molecular listada hace que el DNA dúplex muestre una anchura casi constante a lo largo de su eje longitudinal?
   A. Una base nitrogenada purina siempre forma pares con otra base nitrogenada purina.
   B. Una base nitrogenada pirimidina siempre forma pares con otra base nitrogenada pirimidina.
   C. Una base nitrogenada pirimidina siempre forma pares con una base nitrogenada purina.
   D. La repulsión entre grupos fosfato mantiene las cadenas separadas a una distancia uniforme.
   E. La atracción entre grupos fosfato mantiene las cadenas separadas a una distancia uniforme.

10. El modelo para la replicación del DNA propuesto por vez primera por Watson y Crick propuso que toda la molécula de DNA dúplex hija bicatenaria recién replicada:
    A. Estaba compuesta de las dos cadenas de la molécula de DNA progenitora.
    B. Contenía solamente las dos cadenas de DNA recién sintetizadas.
    C. Contenía dos cadenas que son mezclas al azar de DNA nuevo y viejo dentro de cada cadena.
    D. Estaba compuesto de una cadena derivada del dúplex de DNA progenitor original y una cadena recién sintetizada.
    E. Estaba compuesto de secuencias de nucleótido por completo distintas de una u otra cadena de DNA original.

11. Nombre el mecanismo mediante el cual se sintetiza RNA a partir de DNA.
    A. Duplicación replicacional.
    B. Traducción.
    C. Reparación translesión.
    D. Transesterificación.
    E. Transcripción.

12. ¿Cuál de las fuerzas o interacciones listadas a continuación desempeña el papel predominante en impulsar la formación de las estructuras secundaria y terciaria del RNA?
    A. Repulsión hidrofílica.
    B. Formación de regiones de pares de bases complementarias.
    C. Interacción hidrofóbica.
    D. Interacciones de Van der Waals.
    E. Formación de puente de sal.

13. Nombre la enzima que sintetiza RNA a partir de una plantilla de DNA bicatenario.
    A. RNA polimerasa dependiente de RNA.
    B. RNA convertasa dependiente de DNA.
    C. Replicasa dependiente de RNA.
    D. RNA polimerasa dependiente de DNA.
    E. Transcriptasa inversa.

14. Defina la diferencia característica más notable respecto a la expresión de gen entre eucariontes y procariontes.
    A. Longitudes de nucleótido de RNA ribosómico.
    B. Mitocondrias.
    C. Lisosomas y peroxisomas.
    D. Secuestro del material genómico en el núcleo.
    E. Clorofila.

15. ¿Cuál de las cifras que siguen describe correctamente el número aproximado de bp de DNA _____, que está separado hacia _____ cromosomas en una célula humana diploide típica en un estado sin replicación?
    A. 64 mil millones, 23.
    B. 6.4 billones, 46.
    C. 23 mil millones, 64.
    D. 64 mil millones, 46.
    E. 6.4 mil millones, 46.

16. ¿Cuál es el número aproximado de pares de bases asociadas con un nucleosoma único?
    A. 146.
    B. 292.
    C. 73.
    D. 1 460.
    E. 900.

17. Todas salvo una de las histonas que siguen se encuentran ubicadas dentro de la superhélice formada entre el DNA y el octámero de histona; esta histona es
    A. Histona H2B.
    B. Histona H3.
    C. Histona H1.
    D. Histona H3.
    E. Histona H4.

18. La cromatina puede definirse ampliamente como activa y reprimida; una subclase de cromatina que está específicamente desactivada en ciertos momentos en el transcurso de la vida de un organismo, o en grupos particulares de células diferenciadas, o en ambos, se denomina:
    A. Eucromatina constitutiva.
    B. Heterocromatina facultativa.
    C. Eucromatina.
    D. Heterocromatina constitutiva.

19. ¿Cuál de las opciones que siguen plantea la hipótesis de que el estado físico y funcional de una cierta región de cromatina genómica depende de los patrones de modificaciones postraduccionales (PTM) de histona específicos, o del estado de metilación del DNA, o ambos?
    A. Código Morse.
    B. Hipótesis de la PTM.
    C. Hipótesis del cuerpo nuclear.
    D. Código epigenético.
    E. Código genético.

20. ¿Cuál es el nombre del tramo repetido poco común de DNA localizado en los extremos de todos los cromosomas eucariontes?
    A. Cinetocoro.
    B. Telómero.
    C. Centríolo.
    D. Cromómero.
    E. Micrómero.

21. Dado que las DNA polimerasas son incapaces de sintetizar DNA sin un cebador, ¿cuál molécula sirve como el cebador para estas enzimas durante la replicación del DNA?
    A. Azúcares de cinco carbonos.
    B. Desoxirribosa sola.
    C. Una molécula de RNA corto.
    D. Proteínas con grupos hidroxilo libres.
    E. Fosfomonoéster.

22. La replicación de DNA discontinua que ocurre durante la replicación es catalizada por medio de la producción de segmentos de DNA pequeños llamados:
    A. Fragmentos de Okazaki.
    B. Piezas de Toshihiro.
    C. Oligonucleótidos de Onishi.
    D. Cadenas de Crick.
    E. Fragmentos de Watson.

23. ¿Qué molécula o fuerza proporciona la energía que impulsa el alivio de la tensión mecánica por la DNA girasa?
    A. Conversión de pirimidina en purina.
    B. Hidrólisis de GTP.
    C. Hidrólisis de ATP.
    D. Glucólisis.
    E. Una molécula o fuerza de gradiente de protón.

24. ¿Cuál es el nombre de la fase del ciclo celular entre la conclusión de la división celular y el inicio de la síntesis de DNA?
    A. G_1.
    B. S.
    C. G_2.
    D. M.
    E. G_0.

25. ¿En qué etapa del ciclo celular se activan proteína cinasas clave, como la cinasa dependiente de ciclina?
    A. Inmediatamente antes de la mitosis.
    B. Al principio de la fase S.
    C. Cerca del final de la fase G_1.
    D. Al final de la fase G_2.
    E. Todas las anteriores.

26. ¿Qué enfermedad suele relacionarse con la pérdida de la capacidad de una célula para regular/controlar su propia división?
    A. Enfermedad renal.
    B. Cáncer.
    C. Enfisema.
    D. Diabetes.
    E. Enfermedad del corazón.

27. ¿Cuál es el mecanismo molecular del cual depende la disminución rápida de la actividad de Cdk que lleva a salida de la fase M y entrada hacia la fase G_1?
    A. Disminución de la concentración de ciclina mitótica.
    B. Decremento de la concentración de ciclina G_1.
    C. Aumento de la concentración de ciclina G_2.
    D. Aumento de la concentración de ciclina mitótica.
    E. Aumento de la concentración de ciclina G_1.

28. El sitio al cual la RNA polimerasa se une en la plantilla de DNA antes del inicio de la transcripción.
    A. Unión de intrón/exón.
    B. Marco de lectura abierto DNA.
    C. Terminador.
    D. Codón metionina iniciador.
    E. Promotor.

29. Los genes que codifican para rRNA eucarionte grande, como los genes que codifican para RNA 18S y 28S, son transcritos ¿por cuál de las RNA polimerasas que siguen?
    A. RNA polimerasa III.
    B. RNA polimerasa δ dependiente de RNA.
    C. RNA polimerasa I.
    D. RNA polimerasa II.
    E. RNA polimerasa mitocondrial.

30. Las RNA polimerasas eucariontes tienen un requerimiento de gran variedad de proteínas accesorias para permitirles unirse a promotores y formar complejos de transcripción importantes desde el punto de vista fisiológico; estas proteínas se denominan:
    A. Factores de transcripción basales o generales.
    B. Activadores.
    C. Factores accesorios.
    D. Factores de alargamiento.
    E. Polipéptidos facilitadores.

31. El segmento de DNA a partir del cual el transcrito primario es copiado o transcrito se llama:
    A. Región codificadora.
    B. Dominio de metionina iniciador.
    C. Unidad de traducción.
    D. Transcritoma.
    E. Codón inicial.

32. ¿Qué clase de DNA son los cistrones de rDNA eucariontes?
    A. DNA de copia única.
    B. DNA altamente repetitivo.
    C. DNA moderadamente repetitivo.
    D. DNA de secuencia mixta.

33. Las modificaciones de los nucleótidos de los pre-tRNA, pre-rRNA y pre-mRNA ocurren:
    A. De manera posprandial.
    B. De manera posmitótica.
    C. De manera pretranscripcional.
    D. De manera postranscripcional.
    E. De modo prematuro.

34. Los promotores de la RNA polimerasa II están ubicados ¿en cuál lado de la unidad de transcripción?
    A. Interno.
    B. 3′ torrente abajo.
    C. Más cerca del C terminal.
    D. Más cerca del N terminal.
    E. 5′ torrente arriba.

35. Respecto a los mRNA eucariontes, una de las que sigue no es una propiedad normal de los mRNA.
    A. Los mRNA eucariontes tienen modificaciones especiales en sus terminales 5′ (capucha o casquete) y 3′ (cola poli[A]).
    B. Están fijos a ribosomas cuando son traducidos.
    C. Se encuentran en el citoplasma dentro de peroxisomas.
    D. Casi todos tienen un segmento no codificador importante que no dirige el montaje de aminoácidos.
    E. Contienen secuencias de nucleótido continuas que codifican para un polipéptido particular.

36. El enlace que conecta el nucleótido de inicio del mRNA con la estructura cubierta (capucha) 5^{me}-G es un 3:
    A. Puente 3′-5′ fosfodiéster.
    B. Puente 5′-5′ trifosfato.
    C. Puente 3′-3′ trifosfato.
    D. Puente 3′-5′ trifosfato.
    E. Puente 5′-3′ trifosfato.

37. ¿Cuál característica de secuencia de los mRNA maduros de las listadas a continuación se cree que protege a los mRNA contra degradación?
    A. Modificaciones postraduccionales especiales.
    B. Cola 3′ poli$(C)_n$.
    C. Cubierta (capucha) 5^{me}-G.
    D. Intrones.
    E. Estructuras lazo.

38. ¿Cuáles podrían ser las consecuencias del empalme de mRNA inexacto para el RNA?
    A. Un error de base único en una unión de empalme causará una deleción grande.
    B. Un error de base único en una unión de empalme causará una inserción grande.
    C. Un error de base único en una unión de empalme causará una inversión grande.
    D. C y E.
    E. Un error de base único en una unión de empalme cambiará el marco de lectura y dará lugar a traducción errónea de mRNA.

39. ¿Cuál es el complejo macromolecular que se asocia con intrones durante el empalme del mRNA?
    A. Empalmador.
    B. Dicer.
    C. Cuerpo nuclear.
    D. Espliceosoma.
    E. Rebanador.

40. ¿Cuál reacción cataliza la transcriptasa inversa?
    A. Traducción de RNA hacia DNA.
    B. Transcripción de DNA hacia RNA.
    C. Conversión de ribonucleótidos hacia desoxirribonucleótidos.
    D. Transcripción de RNA hacia DNA.
    E. Conversión de un ribonucleótido en desoxinucleótidos en la doble hélice de DNA.

41. La interferencia de RNA mediada por RNAi o dsRNA media:
    A. Ligadura de RNA.
    B. Silenciamiento de RNA.
    C. Inversión de RNA.
    D. Restauración de RNA.
    E. Aplastamiento de RNA.

42. Mientras que el código genético tiene 64 codones, sólo hay 20 aminoácidos que ocurren de modo natural. En consecuencia, algunos aminoácidos están codificados por más de un codón. Esta característica del código genético es una ilustración de que el código genético es:
    A. Degenerado.
    B. Duplicitivo.
    C. Sin superposición.
    D. Con superposición.
    E. Redundante.

43. ¿Cuántos codones de terminación contiene el código genético?
    A. 3.
    B. 21.
    C. 61.
    D. 64.
    E. 20.

44. Si un tRNA tiene la secuencia 5′-CAU-3′, ¿que codón reconocería (ignorar la formación de pares de base tambaleantes)?
    A. 3′-UAC-5′.
    B. 3′-AUG-5′.
    C. 5′-ATG-3′.
    D. 5′-AUC-3′.
    E. 5′-AUG-3′.

45. ¿Qué hay en el extremo 3′ de todos los tRNA maduros, funcionales?
    A. El asa en hoja de trébol.
    B. El anticodón.
    C. La secuencia CCA.
    D. El codón.

46. Casi todas las aminoacil-tRNA sintetasas poseen una actividad que es compartida con DNA polimerasas; esta actividad es una función de:
    A. Corrección de pruebas.
    B. Hidrogenasa.
    C. Proteolítica.
    D. Helicasa.
    E. Endonucleolítica.

47. Las tres fases distintas de la síntesis de proteína, en el orden CORRECTO, son:
    A. Inicio, terminación, alargamiento.
    B. Terminación, inicio, alargamiento.
    C. Inicio, alargamiento, terminación.
    D. Alargamiento, inicio, terminación.
    E. Alargamiento, terminación, inicio.

48. ¿Cuál aminoácido es el aminoácido iniciador para, en esencia, todas las proteínas?
    A. Cisteína.
    B. Treonina.
    C. Triptófano.
    D. Metionina.
    E. Ácido glutámico.

49. El tRNA iniciador está colocado dentro del complejo 80S activo ¿en cuál de los tres "sitios" ribosomales canónicos durante la síntesis de proteína?
    A. Sitio E.
    B. Sitio I.
    C. Sitio P.
    D. Sitio A.
    E. Sitio de unión a factor liberador.

50. Nombre la enzima que forma el enlace peptídico durante la síntesis de proteína y defina su composición química.
    A. Pepsintasa, proteína.
    B. Peptidil transferasa, RNA.
    C. Peptidasa, glucolípido.
    D. Peptidil transferasa, proteína.
    E. GTPasa, glucopéptido.

51. Las mutaciones en la parte media de un marco de lectura abierto que crean un codón de detención se llaman:
    A. Mutación por cambio de cuadro.
    B. Mutación de sentido erróneo.
    C. Mutación no sin sentido.
    D. Mutación puntual.
    E. Mutación sin sentido.

52. ¿Cuál es la direccionalidad de la síntesis de polipéptido?
    A. Dirección C terminal a N terminal.
    B. Dirección N terminal a 3′.
    C. Dirección N terminal a C terminal.
    D. Dirección 3′ a 5′.
    E. Dirección 5′ a 3′.

53. ¿Cuál de los elementos de acción *cis* que siguen típicamente reside adyacente a muchos promotores procariontes o se superpone con estos últimos?
    A. Gen regulador.
    B. Gen(es) estructural(es).
    C. Represor.
    D. Operador.
    E. Terminador.

54. ¿Cuál es el término que se aplica a un segmento de un cromosoma bacteriano donde los genes que codifican para las enzimas de una vía metabólica particular están agrupados y sujetos a control coordinado?
    A. Operón.
    B. Operador.
    C. Promotor.
    D. Controlador terminal.
    E. Origen.

55. ¿Cuál es el término que se aplica al conjunto completo de proteínas presentes en un tipo de célula particular?
    A. Genoma.
    B. Colección de péptidos.
    C. Transcriptoma.
    D. Translatoma.
    E. Proteoma.

56. ¿De qué modo la formación de nucleosoma en el DNA genómico afecta la fase de inicio, o de alargamiento, o ambas, de la transcripción?
    A. Los nucleosomas inhiben el acceso de enzimas involucradas en todas las fases de la transcripción.
    B. Los nucleosomas reclutan enzimas modificadoras de histona y DNA, y las acciones de estas enzimas reclutadas afectan el acceso de proteínas de la transcripción a DNA.
    C. Los nucleosomas inducen degradación de DNA donde el DNA tiene contacto con las histonas.
    D. Los nucleosomas no tienen efectos importantes sobre la transcripción

57. ¿Qué tipos de moléculas interactúan con sitios promotores centrales de gen que codifica para mRNA eucarionte para facilitar la asociación de RNA polimerasa II?
    A. Factores de terminación.
    B. Factores de transcripción específicos para secuencia (transactivadores).
    C. Factores de alargamiento.
    D. GTPasas.
    E. Factores de transcripción generales, o basales (es decir, los GTF).

58. Casi todos los factores de transcripción eucariontes contienen al menos dos dominios, cada uno de los cuales media diferentes aspectos de la función de factor de transcripción; estos dominios son:
    A. Dominio de unión a RNA y dominio de represión.
    B. Dominio de activación y dominio de represión.
    C. Dominio de unión a DNA y dominio de activación.
    D. Dominio de unión a DNA y dominio de unión a ligando.
    E. Dominio de unión a RNA y el dominio de activación.

59. Los factores de transcripción unidos a aumentadores estimulan el inicio de la transcripción en el promotor central enlazado a *cis* por medio de la acción de intermediarios llamados:
    A. Coactivadores.
    B. Proteínas de cotranscripción.
    C. Correpresores.
    D. Receptores.
    E. Coordinadores.

60. ¿Cuáles reacciones entre proteínas de transcripción expanden mucho la diversidad de factores reguladores que pueden ser generados a partir de un pequeño número de polipéptidos?
    A. Recombinación.
    B. Homodimerización.
    C. Heterocigosidad.
    D. Heterodimerización.
    E. Trimerización.

61. La región del gen que contiene la secuencia TATA y que se extiende al sitio de inicio de la transcripción (TSS) a menudo se llama:
    A. Casa de polimerasa.
    B. Iniciador.
    C. Selector de inicio.
    D. Promotor central.
    E. Operador.

62. ¿Cuál de los mecanismos posibles que siguen para la manera en que los aumentadores pueden estimular la transcripción desde grandes distancias en la actualidad se cree que es CORRECTO?
    A. Los aumentadores pueden escindir de manera reversible el DNA interpuesto entre aumentadores y promotores.
    B. La RNA polimerasa II se une ávidamente a secuencias aumentadoras.
    C. Los aumentadores desenrollan DNA.
    D. Los aumentadores pueden buscar en el DNA y unirse de manera directa al promotor central asociado.
    E. Los aumentadores y los promotores centrales son llevados hacia estrecha proximidad por medio de la formación de asa de DNA mediada por proteínas de unión a DNA.

63. ¿Cuáles de los aminoácidos de histona que siguen típicamente están acetilados?
    A. Lisina.
    B. Arginina.
    C. Asparagina.
    D. Histidina.
    E. Leucina.

64. Coloque en orden los pasos que siguen; ¿cuáles son los pasos que ocurren de manera secuencial durante un evento de activación de la transcripción después de la unión de un activador transcripcional a su sitio de unión activador cognado en el DNA genómico?
    1. El complejo remodelador de cromatina se une a las histonas centrales en la región blanco.
    2. Las acciones combinadas de los diversos complejos moleculares aumentan la accesibilidad del promotor a la maquinaria transcripcional.
    3. El activador recluta un coactivador hacia una región de cromatina establecida como objetivo para transcripción.
    4. La maquinaria transcripcional se monta en el sitio donde se iniciará la transcripción.
    5. El coactivador acetila las histonas centrales de nucleosomas cercanos.
    A. 1 - 2 - 3 - 4 - 5
    B. 3 - 1 - 5 - 2 - 4
    C. 3 - 5 - 1 - 2 - 4
    D. 5 - 3 - 1 - 2 - 4
    E. 3 - 5 - 1 - 4 - 2

65. ¿Qué estrategia en la investigación de factor de transcripción permite la identificación simultánea de todos los sitios genómicos unidos por un factor de transcripción dado bajo un determinado grupo de condiciones fisiológicas?
    A. Mapeo de deleción sistemático.
    B. Sensibilidad de DNAasa I.
    C. Inmunoprecipitación-secuencia de cromatina (ChIP-sec).
    D. FISH.
    E. Microscopia de obtención de imágenes durante toda la vida de fluorescencia.

66. ¿Cuáles secuencias se extienden entre la cubierta de 5-metilguanosina presente sobre mRNA eucariontes hacia el codón de inicio AUG?
    A. Codón de paro.
    B. Último exón.
    C. Último intrón.
    D. UTR 3′.
    E. UTR 5′.

67. ¿Cuál de las características que siguen del mRNA eucarionte contribuyen de manera importante a la vida media del mensaje?
    A. Secuencias UTR 5′.
    B. El promotor.
    C. El operador.
    D. UTR 3′ y cola poli(A).
    E. El primer intrón.


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN VIII

Bioquímica de la comunicación extracelular e intracelular

CAPÍTULO 40

Membranas: estructura y función

Robert K. Murray, MD, PhD & P. Antony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Saber que las membranas biológicas están compuestas principalmente de una bicapa lipídica y de proteínas y glucoproteínas asociadas. Los principales lípidos son fosfolípidos, colesterol y glucoesfingolípidos.
- Apreciar que las membranas son estructuras dinámicas, asimétricas, que contienen una mezcla de proteínas integrales y periféricas.
- Conocer el modelo de mosaico fluido de la estructura de la membrana, y que es ampliamente aceptado; las balsas de lípido, las caveolas y las uniones intercelulares herméticas (zonas de oclusión) son características especializadas.
- Entender los conceptos de difusión pasiva, difusión facilitada, transporte activo, endocitosis y exocitosis.
- Reconocer que los transportadores, los canales iónicos, la Na^+-K^+-ATPasa, receptores y uniones intercelulares comunicantes (conexiones comunicantes) son participantes de importancia en la función de la membrana.
- Saber que diversos trastornos dependen de anormalidades de la estructura de la membrana y la función de la misma, entre ellos hipercolesterolemia familiar, fibrosis quística, esferocitosis hereditaria y muchos otros.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR ET MELIOR
FUNDADA EN 1620
QUITO

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las membranas son estructuras dinámicas, altamente fluidas, que constan de una bicapa lipídica y proteínas asociadas. Las **membranas plasmáticas** forman compartimentos cerrados alrededor del citoplasma para definir los límites de la célula. La membrana plasmática tiene **permeabilidades selectivas** y actúa como una barrera, lo que mantiene diferencias de la composición entre el interior y el exterior de la célula. La permeabilidad molecular de membrana selectiva es generada por medio de la acción de **transportadores** y **canales de iones** específicos. La membrana plasmática también intercambia material con el ambiente extracelular por medio de **exocitosis** y **endocitosis**, y hay áreas especiales de la estructura de la membrana (**las uniones intercelulares comunicantes o conexiones comunicantes**) a través de las cuales células adyacentes intercambian material. Además, la membrana plasmática desempeña funciones clave en las **interacciones entre una célula y otra** y en la **señalización transmembrana**.

Las membranas también forman **compartimientos especializados** dentro de la célula. Esas membranas intracelulares ayudan a formar muchas de las estructuras distinguibles desde el punto de vista morfológico (organelos), por ejemplo, mitocondrias, retículo endoplásmico (ER), complejos de Golgi, gránulos secretorios, lisosomas y núcleo. Las membranas localizan **enzimas**; funcionan como elementos esenciales en el **acoplamiento entre excitación y respuesta**, y proporcionan sitios de **transducción de energía,** como en la fotosíntesis (cloroplastos) y la fosforilación oxidativa (mitocondria).

Los **cambios** en los componentes de la membrana pueden afectar el equilibrio de agua y el flujo de ion y, en consecuencia, muchos de los procesos dentro de la célula. Deficiencias o alteraciones específicas de ciertos componentes de membrana (p. ej., originadas por genes con mutaciones que codifican para proteínas de membrana) conducen a diversas **enfermedades** (cuadro 40-7). En pocas palabras, la función celular normal depende de membranas normales.

MANTENER UN AMBIENTE INTRACELULAR Y EXTRACELULAR NORMAL ES FUNDAMENTAL PARA LA VIDA

La vida se originó en un ambiente acuoso, por ende, las reacciones enzimáticas, los procesos celulares y subcelulares, y así sucesivamente, han evolucionado para trabajar en este medio, encapsulados en una célula.

El agua interna del organismo está compartimentalizada

El agua constituye alrededor de 60% de la masa corporal magra del cuerpo humano, y está distribuida en dos compartimientos grandes.

Líquido intracelular (ICF)

Este compartimiento constituye dos terceras partes del agua corporal total, y proporciona un ambiente especializado para que la célula: 1) produzca, almacene y utilice energía; 2) se repare a sí misma; 3) se replique y 4) desempeñe funciones especiales.

Líquido extracelular (ECF)

Este compartimiento contiene alrededor de **una tercera** parte del agua corporal total, y está distribuido entre los compartimientos plasmático e intersticial. El líquido extracelular es un **sistema de suministro**. Lleva a las células nutrientes (p. ej., glucosa, ácidos grasos, aminoácidos), oxígeno, diversos iones y oligominerales, y diversas moléculas reguladoras (hormonas) que coordinan las funciones de células que están ampliamente separadas. El líquido extracelular **elimina** del ambiente celular inmediato CO_2, productos de desecho, y materiales tóxicos o destoxificados.

Las composiciones iónicas de los líquidos intracelular y extracelular difieren mucho

El **ambiente interno** es rico en K^+ y Mg^{2+}, y el fosfato es su principal anión inorgánico (**cuadro 40-1**). El citosol de las células contiene una concentración alta de proteína que actúa como un importante amortiguador intracelular. El **líquido extracelular** se caracteriza por un contenido alto de Na^+ y Ca^{2+}, y el Cl^- es el principal anión. Estas diferencias iónicas se mantienen debido a diversas membranas que se encuentran en las células; dichas membranas tienen composiciones singulares de lípidos y proteínas. Una fracción de los constituyentes proteínicos de las proteínas de membrana está especializada para generar las composiciones iónicas diferenciales de los compartimentos extracelular e intracelular, y mantenerlas.

CUADRO 40-1 Comparación de las concentraciones medias de diversas moléculas fuera y dentro de una célula de mamífero

Sustancia	Líquido extracelular	Líquido intracelular
Na^+	140 mmol/L	10 mmol/L
K^+	4 mmol/L	140 mmol/L
Ca^{2+} (libre)	2.5 mmol/L	0.1 µmol/L
Mg^{2+}	1.5 mmol/L	30 mmol/L
Cl^-	100 mmol/L	4 mmol/L
HCO_3^-	27 mmol/L	10 mmol/L
PO_4^{3-}	2 mmol/L	60 mmol/L
Glucosa	5.5 mmol/L	0-1 mmol/L
Proteína	2 g/dL	16 g/dL

LAS MEMBRANAS SON ESTRUCTURAS COMPLEJAS COMPUESTAS DE MOLÉCULAS QUE CONTIENEN LÍPIDOS, PROTEÍNAS Y CARBOHIDRATOS

Se comentarán principalmente las membranas presentes en células eucariontes, aunque muchos de los principios descritos también

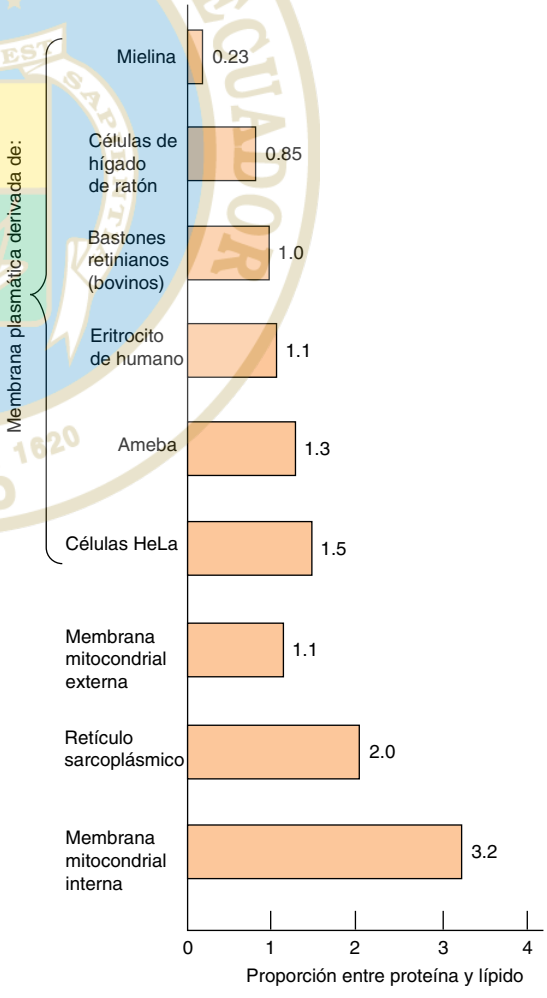


FIGURA 40-1 El contenido de la membrana proteínica es muy variable. Las proteínas igualan o exceden a la cantidad de lípido en casi todas las membranas. La excepción sobresaliente es la mielina, aislador eléctrico que se encuentra en muchas fibras nerviosas.

se aplican a las membranas de procariontes. Las diversas membranas celulares tienen diferentes composiciones de lípidos (véase más adelante) y proteínas. La proporción entre proteína y lípido en diferentes membranas se presenta en la **figura 40-1** y es la causa de las muchas funciones divergentes de orgánulos celulares. Las membranas son estructuras encerradas tipo lámina que constan de una bicapa lipídica asimétrica con superficies o caras interna y externa separadas. Estas estructuras y superficies son montajes no covalentes, tipo lámina, tachonados de proteínas, que se forman de manera espontánea en agua debido a la naturaleza anfipática de los lípidos y las proteínas contenidos dentro de la membrana.

Los principales lípidos en membranas de mamífero son fosfolípidos, glucoesfingolípidos y colesterol

Fosfolípidos

De las dos clases principales de fosfolípido presentes en las membranas, los **fosfoglicéridos** son los más frecuentes, y constan de un esqueleto de glicerol al cual están fijos dos ácidos grasos en enlace éster, y un alcohol fosforilado (**figura 40-2**). Los constituyentes **ácido graso** por lo general son moléculas de carbono con números pares, que contienen con mayor frecuencia 16 o 18 carbonos. Son no ramificadas y pueden estar saturadas o insaturadas con uno o más dobles enlaces *cis*. El fosfoglicérido **más simple** es el **ácido fosfatídico**, que es el 1,2-diacilglicerol 3-fosfato, un intermediario clave en la formación de otros fosfoglicéridos (capítulo 24). En casi todos los fosfoglicéridos presentes en membranas, el 3-fosfato se esterifica hacia un **alcohol** como etanolamina, colina, serina, glicerol o inositol (capítulo 21). La fosfatidilcolina en general es el principal fosfoglicérido por masa en las membranas de células de humano.

La segunda clase principal de fosfolípidos comprende **esfingomielina** (figura 21-13), un fosfolípido que contiene una esfingosina en lugar de un esqueleto de glicerol. Un ácido graso está unido mediante un enlace amida al grupo amino de la esfingosina, lo cual forma **ceramida**. Cuando el grupo hidroxilo primario de la esfingosina es esterificado a fosforilcolina, se forma esfingomielina; como su nombre lo sugiere, la esfingomielina es prominente en vainas de mielina.

Glucoesfingolípidos

Los glucoesfingolípidos (GSL) son lípidos que contienen azúcar, construidos sobre un esqueleto de **ceramida**. GSL incluyen la **galactosil ceramida** y la **glucosil ceramida** (cerebrósidos) y los **gangliósidos** (véase estructuras en capítulo 21) y están ubicados principalmente en las membranas plasmáticas de células, y despliegan sus componentes azúcar hacia el exterior de la célula.

Esteroles

El esterol más común en las membranas de células animales es el **colesterol** (capítulo 21). Casi todo el colesterol reside dentro de **membranas plasmáticas**, pero se encuentran cantidades más pequeñas dentro de membranas mitocondriales, del complejo de Golgi y nucleares. El colesterol se intercala entre los fosfolípidos de la membrana, con su grupo hidroxilo en la interfase acuosa y el resto de la molécula dentro de la capa. Desde un punto de vista nutricional, tiene importancia saber que el colesterol no está presente en vegetales.

Los lípidos se pueden separar uno de otro y cuantificar mediante técnicas como cromatografía en columna, en capa delgada, y en gas-líquido, y su estructura puede establecerse mediante espectrometría de masa y otras técnicas (capítulo 4).

Los lípidos de membrana son anfipáticos

Todos los lípidos importantes en las membranas contienen regiones tanto hidrofóbica como hidrofílica y, por tanto, se llaman **anfipáticos**. Si la región hidrofóbica se separara del resto de la molécula, sería insoluble en agua pero soluble en solventes orgánicos. Por el contrario, si la región hidrofílica se separara del resto de la molécula, sería insoluble en aceite pero soluble en agua. En la **figura 40-3** y en la figura 21-24 se representa la naturaleza anfipática de un fosfolípido. Así, los **grupos de la cabeza polar** de los fosfolípidos y el grupo hidroxilo del colesterol hacen interfaz con el ambiente acuoso; una situación similar se aplica a las **porciones azúcar** de los GSL (véase más adelante).

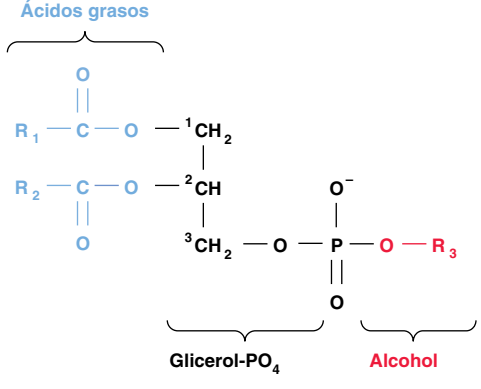


FIGURA 40-2 Un fosfoglicérido que muestra los ácidos grasos (R_1 y R_2), glicerol y un componente alcohol fosforilado. Los ácidos grasos saturados suelen estar unidos al carbono 1 del glicerol, y los ácidos grasos insaturados a carbono 2. En el ácido fosfatídico, R_3 es hidrógeno.

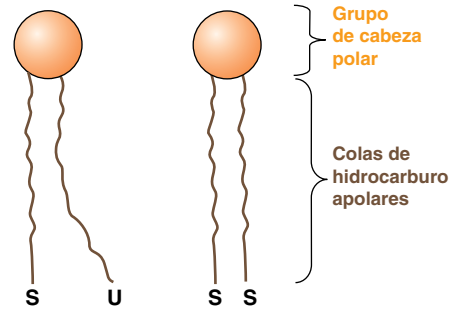


FIGURA 40-3 Representación esquemática de un fosfolípido u otro lípido de membrana. El grupo de cabeza polar es hidrofílico, y las colas de hidrocarburo son hidrofóbicas o lipofílicas. Los ácidos grasos en las colas están saturados (S) o insaturados (U); los primeros regularmente están fijos al carbono 1 del glicerol, y los segundos al carbono 2 (figura 40-2). Note el acodamiento en la cola del ácido graso insaturado (U), que es importante para conferir incremento de la fluidez de membrana.

Los **ácidos grasos saturados** forman colas relativamente rectas, mientras que los ácidos grasos insaturados, que por lo general existen en la forma *cis* en las membranas, forman colas "curvadas" (figura 40-3; véanse también las figuras 21-1 y 21-6). A medida que aumenta el número de dobles enlaces dentro de las cadenas laterales de lípido, también lo hace el número de curvas en las colas. Como consecuencia, los lípidos de la membrana quedan empacados de manera menos estrecha y la membrana se hace más fluida. En el capítulo 21 se describe el problema causado por la presencia de ácidos grasos trans en lípidos de membrana.

Los **detergentes** son moléculas anfipáticas importantes en bioquímica así como en el hogar. La estructura molecular de un detergente se parece a la de un fosfolípido. Ciertos detergentes se usan de modo amplio para **solubilizar** y purificar proteínas de membrana. El extremo hidrofóbico del detergente se une a las regiones hidrofóbicas de las proteínas, y desplaza casi todos sus lípidos unidos. El extremo polar del detergente es libre, y lleva a las proteínas hacia solución como complejos de detergente-proteína, que por lo general también contienen algunos lípidos residuales.

Los lípidos de membrana forman bicapas

El carácter anfipática de los fosfolípidos sugiere que las dos regiones de la molécula tienen solubilidades incompatibles; sin embargo, en un solvente como el agua, los fosfolípidos se organizan por sí mismos de manera espontánea hacia **micelas** (**figura 40-4** y figura 21-24), un montaje que satisface termodinámicamente los requerimientos de solubilidad de las dos regiones químicamente distintas de estas moléculas. Dentro de la micela las regiones hidrofóbicas de los fosfolípidos anfipáticos están protegidas del agua, mientras que los grupos polares hidrofílicos están inmersos en el ambiente acuoso. Las micelas por lo general son relativamente pequeñas (p. ej., alrededor de 200 nm) y, de esta manera, están limitadas en su potencial para formar membranas. Los detergentes suelen formar micelas.

Los fosfolípidos y moléculas anfipáticas similares pueden formar otra estructura, la **bicapa lipídica bimolecular**, que también satisface los requerimientos termodinámicos de moléculas anfipáticas en un ambiente acuoso. Las bicapa son estructuras clave en

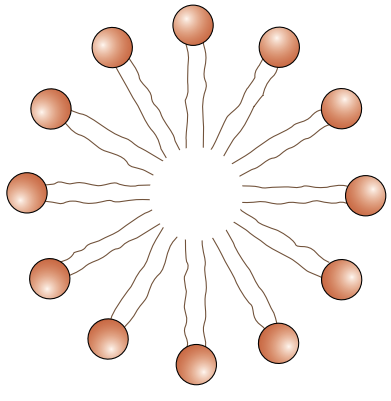


FIGURA 40-4 Corte transversal esquemático de una micela. Los grupos de la cabeza polar están bañados en agua, mientras que las colas de hidrocarburo hidrofóbicas están rodeadas por otros hidrocarburos y, de esta manera, están protegidas contra el agua. Las micelas son estructuras esféricas relativamente pequeñas (en comparación con las bicapas lipídicas).

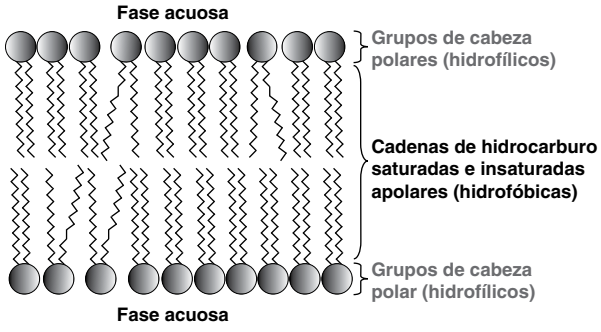


FIGURA 40-5 Diagrama de un corte de una membrana bicapa formada a partir de fosfolípidos. Las colas de ácidos grasos insaturados están curvadas y llevan a más espacio entre los grupos de cabeza polar, y por ende a más espacio para movimiento. Esto, a su vez, da por resultado fluidez aumentada de la membrana.

membranas biológicas. Las bicapas existen como láminas donde las regiones hidrofóbicas de los fosfolípidos son secuestradas desde el ambiente acuoso, mientras que las porciones hidrofílicas, cargadas, están expuestas a agua (**figura 40-5** y figura 21-24). Los extremos o bordes de la hoja de bicapa pueden eliminarse al plegar la hoja sobre sí misma para formar una vesícula encerrada sin bordes. La bicapa cerrada proporciona una de las propiedades más esenciales de las membranas. Es **impermeable a casi todas las moléculas hidrosolubles**, puesto que serían insolubles en el centro hidrofóbico de la bicapa. El **automontaje de bicapas lipídicas** es impulsado por el **efecto hidrofóbico** (capítulo 2). Cuando moléculas de lípido se juntan en una bicapa, la entropía de las moléculas de solvente circundantes aumenta debido a la liberación de agua inmovilizada.

Surgen dos preguntas a partir de la consideración de esta información. En primer lugar, ¿cuántos materiales biológicos son **liposolubles** y, por ende, pueden entrar con facilidad en la célula? Los gases como el oxígeno, CO_2 y nitrógeno (moléculas pequeñas con poca interacción con solventes) se difunden con facilidad a través de las regiones hidrofóbicas de la membrana. En la **figura 40-6** se muestran los **coeficientes de permeabilidad** de varios iones y de varias otras moléculas en una bicapa lipídica. Los tres electrólitos que se muestran, Na^+, K^+ y Cl^-, cruzan la bicapa con mucho mayor lentitud que el agua. En general, los coeficientes de permeabilidad de moléculas pequeñas en una bicapa lipídica **se correlacionan con sus solubilidades en solventes no polares**; por ejemplo, los **esteroides** cruzan con mayor facilidad la bicapa lipídica en comparación con los electrólitos. El coeficiente de permeabilidad alto del **agua** en sí es sorprendente, pero se explica en parte por su tamaño pequeño y falta relativa de carga. Muchos **fármacos** son hidrofóbicos y pueden cruzar con facilidad las membranas y entrar en las células.

La segunda pregunta se refiere a las **moléculas que no son liposolubles**: ¿de qué modo se mantienen los gradientes de concentración transmembrana de moléculas no liposolubles? La respuesta es que **las membranas contienen proteínas**, muchas de las cuales están insertas en la bicapa lipídica en orientaciones singulares. Estas proteínas forman **canales** para el movimiento de iones y moléculas pequeñas o sirven como **transportadores** para moléculas que por lo demás no podrían cruzar con facilidad la bicapa lipídica (membrana). A continuación se describen la naturaleza,

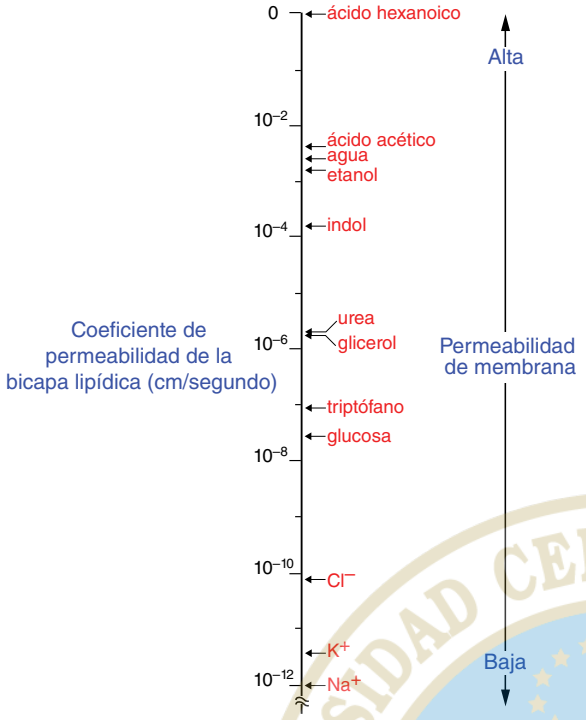


FIGURA 40-6 Coeficientes de permeabilidad del agua, algunos iones y otras moléculas pequeñas en membranas de bicapa lipídica. El coeficiente de permeabilidad es una medida de la capacidad de una molécula para difundirse a través de una barrera de permeabilidad. Las moléculas que se mueven con rapidez a través de una membrana dada se dice que tienen un coeficiente de permeabilidad alto.

las propiedades y las estructuras de canales y transportadores de membrana.

Las proteínas de membrana se relacionan con la bicapa lipídica

Los **fosfolípidos** de membrana actúan como un solvente para proteínas de membrana, y crean un ambiente en el cual estas últimas pueden funcionar. Como se describe en el capítulo 5, la **estructura helicoidal α de las proteínas** minimiza la naturaleza hidrofílica de los enlaces peptídicos en sí. De este modo, las proteínas pueden ser anfipáticas y formar una parte integral de la membrana al tener regiones hidrofílicas que sobresalen en las caras interna y externa de la membrana, pero que están conectadas por una región hidrofóbica que atraviesa el centro hidrofóbico de la bicapa. De hecho, esas porciones de las proteínas de membrana que cruzan membranas contienen números considerables de aminoácidos hidrofóbicos y casi siempre tienen un contenido helicoidal α alto. Para la mayoría de las membranas, un tramo de alrededor de 20 aminoácidos en una hélice α abarcará la bicapa.

Es posible calcular si una secuencia particular de aminoácidos presente en una proteína es congruente con una **ubicación transmembrana**; esto puede efectuarse al consultar un cuadro que lista las hidrofobicidades de cada uno de los 20 aminoácidos comunes y los valores de energía libre para su transferencia desde el interior de una membrana hacia agua. Los aminoácidos hidrofóbicos tienen valores positivos; los aminoácidos polares tienen valores negativos. Los valores de energía libre total para transferir secuencias sucesivas de 20 aminoácidos en la proteína se grafican, lo que da un denominado **gráfico de hidropatía**. Los valores de más de 20 kcal/mol^{-1} son congruentes con la interpretación de que la secuencia hidrofóbica es un segmento transmembrana, mas no la prueban.

Otro aspecto de la interacción de lípidos y proteínas es que algunas proteínas están ancladas a una cara de la bicapa mediante enlaces covalentes a ciertos lípidos; este proceso se denomina **lipidación de proteína**. La lipidación puede ocurrir en terminaciones de proteína (N o C) o internamente. Los eventos de lipidación de proteína comunes son: **isoprenilación**, **colesterilación** y **glicofosfatidilinositol** (**GPI**; capítulo 46) de proteína C terminal; **miristoilación** de proteína N terminal, y **S-prenilación** y **S-acilación** de cisteína interna. Esa lipidación sólo ocurre en un subgrupo específico de proteínas.

Diferentes membranas tienen diferentes composiciones de proteína

El **número de proteínas diferentes** en una membrana varía desde menos de una docena muy abundantes proteínas en el retículo sarcoplasmático de células musculares hasta cientos en las membranas plasmáticas. Las proteínas son las **principales moléculas funcionales** de las membranas, y constan de **enzimas**, **bombas** y **transportadores, canales, componentes estructurales, antígenos** (p. ej., para histocompatibilidad) y **receptores** para diversas moléculas. Dado que cada tipo de membrana posee una totalidad diferente de proteínas, no existe una estructura de membrana típica. En el **cuadro 40-2** se muestran las enzimas asociadas con propiedades enzimáticas de varias membranas.

Las membranas son estructuras dinámicas

Las membranas y sus componentes son estructuras dinámicas. Los lípidos y las proteínas en las membranas sufren recambio, de la misma manera que lo hacen en otros compartimientos de la célula. Diferentes lípidos tienen distintos índices de recambio, y los índices de recambio de especies individuales de proteínas

CUADRO 40-2 Marcadores enzimáticos de diferentes membranas[a]

Membrana	Enzima
Plasmática	5′-nucleotidasa
	Adenililciclasa
	Na^+-K^+-ATPasa
Retículo endoplásmico	Glucosa-6-fosfatasa
Aparato de Golgi	
Cis	GlcNAc transferasa I
Medial	Golgi manosidasa II
Trans	Galactosil transferasa
Trans Golgi Network	Sialil transferasa
Membrana mitocondrial interna	ATP sintasa

[a] Las membranas contienen muchas proteínas, algunas de las cuales tienen actividad enzimática. Algunas de estas enzimas sólo están ubicadas en ciertas membranas y, por ende, pueden usarse como marcadores para vigilar la purificación de estas membranas.

de membrana pueden variar ampliamente. En algunas instancias la membrana en sí puede sufrir recambio con aún más rapidez que cualquiera de sus constituyentes; esto se comenta con mayor detalle en la sección sobre endocitosis.

Otro indicador de la naturaleza dinámica de las membranas es que diversos estudios han mostrado que los lípidos y ciertas proteínas muestran **difusión lateral** en el plano de sus membranas. Muchas proteínas inmóviles no muestran difusión lateral porque están fijas al citoesqueleto de actina subyacente. En contraste, el movimiento **transversal** de lípidos a través de la membrana (***"flip-flop"***) es en extremo lento (véase más adelante), y no ocurre en absoluto en el caso de las proteínas de membrana.

Las membranas son estructuras asimétricas

Las proteínas tienen orientaciones singulares en las membranas, lo que hace que las **superficies externas sean diferentes de las internas**. La ubicación externa de los carbohidratos fijos a las proteínas de membrana también proporciona una **asimetría de interior-exterior**. Más aún, proteínas específicas están localizadas de modo exclusivo en el exterior o el interior de las membranas.

Hay **heterogeneidades regionales** en las membranas. Algunas, como sucede en los bordes vellosos de las células mucosas, son visibles casi macroscópicamente. Otras, como las que están en uniones intercelulares comunicantes, zonas de oclusión (uniones intercelulares herméticas), y sinapsis, ocupan regiones de tamaño mucho menor de la membrana, y generan asimetrías locales correspondientemente de menor tamaño.

También hay **asimetría de los fosfolípidos** interna-externa (transversal). Los **fosfolípidos que contienen colina** (fosfatidilcolina y esfingomielina) están localizados principalmente en la **capa molecular externa**; los **aminofosfolípidos** (fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina) están ubicados de preferencia en la **hojuela interna.** Es obvio que, si esta asimetría existe en absoluto, debe haber movilidad transversal limitada (*"flip-flop"*) de los fosfolípidos de membrana. En realidad, los fosfolípidos en bicapas sintéticas muestran un **índice de *"flip-flop"* extraordinariamente lento**; la vida media de la asimetría puede medirse en varias semanas.

No se entienden del todo los mecanismos comprendidos en el **establecimiento de asimetría de lípido**. Las enzimas involucradas en la síntesis de fosfolípidos están situadas en el lado citoplásmico de las vesículas de membrana microsómica. Hay translocasas **(flipasas)** que transfieren ciertos fosfolípidos (p. ej., fosfatidilcolina) desde la hojuela interna hacia la externa. **Proteínas específicas que se unen de preferencia** a fosfolípidos individuales también parecen estar presentes en las dos hojuelas, lo que contribuye a la distribución asimétrica de estas moléculas lípidas. Además, las **proteínas de intercambio de fosfolípido** reconocen fosfolípidos específicos y los transfieren desde una membrana (p. ej., el retículo endoplásmico [ER]) hacia otras (p. ej., mitocondrial y peroxisómica). Un tema relacionado es **cómo entran los lípidos a las membranas**; esto no se ha estudiado de manera tan intensiva como el tema de cómo entran las proteínas a las membranas (capítulo 46), y el conocimiento aún es relativamente escaso. Muchos lípidos de membrana se sintetizan en el ER. Se han reconocido al menos tres vías. 1) transporte desde el ER en vesículas, que a continuación transfieren los lípidos contenidos hacia la membrana receptora; 2) entrada mediante contacto directo de una membrana (p. ej., el ER) con otra, facilitada por proteínas específicas y 3) transporte por medio de las proteínas de intercambio de fosfolípido (también conocidas como las proteínas de transferencia de lípido) antes mencionadas. Esto sólo intercambia lípidos, pero no causa transferencia neta.

Hay **asimetría adicional** respecto a los glucoesfingolípidos y las **glucoproteínas**; las **porciones azúcar** de estas moléculas **sobresalen hacia afuera** de la membrana plasmática, y están ausentes de su cara interna.

Las membranas contienen proteínas integrales y periféricas

Es útil clasificar a las proteínas de membrana en dos tipos: **integrales** y **periféricas** (**figura 40-7**). Casi todas las proteínas de membrana caen dentro de la **clase integral**, lo que significa que interactúan de manera extensa con los fosfolípidos y **requieren el uso de detergentes** para su solubilización. Asimismo, por lo general abarcan la bicapa como un haz de segmentos transmembrana α-helicoidales. Las proteínas integrales regularmente son globulares y son por sí mismas anfipáticas. Constan de dos extremos hidrofílicos separados por una región hidrofóbica interpuesta que atraviesa el centro hidrofóbico de la bicapa. Conforme se estuvieron elucidando las estructuras de las proteínas de membrana integrales, quedó de manifiesto que algunas (p. ej., proteínas transportadoras, canales de ion, diversos receptores, y proteínas G) abarcan la bicapa muchas veces, mientras que otras proteínas de membrana simples, (p. ej., glicoforina A) abarcan la membrana únicamente una vez (figuras 42-4 y 52-5). Las proteínas esenciales también tienen distribución asimétrica a través de la bicapa de la membrana. Esta orientación asimétrica se confiere en el momento de su inserción en la bicapa lipídica durante la biosíntesis en el ER. Los mecanismos moleculares incluidos en la inserción de proteínas hacia membranas, y el tema del montaje de membrana, se comentan en el capítulo 49.

Las **proteínas periféricas** no interactúan de modo directo con los centros hidrofóbicos de los fosfolípidos en la bicapa y, de esta manera, **no necesitan el uso de detergentes** para su liberación. Están unidas a las regiones hidrofílicas de proteínas integrales específicas y grupos de cabeza de fosfolípidos, y pueden liberarse de ellos mediante tratamiento con soluciones salinas de alta fuerza iónica. Por ejemplo, la anquirina, una proteína periférica, está unida a la cara interna de la proteína integral "banda 3" de la membrana de los eritrocitos. La espectrina, una estructura citoesquelética dentro del eritrocito, a su vez está unida a la anquirina y, de este modo, tiene importancia en el mantenimiento de la forma bicóncava del eritrocito.

LAS MEMBRANAS ARTIFICIALES MODELAN LA FUNCIÓN DE MEMBRANA

Es posible preparar sistemas de membranas artificiales por medio de técnicas apropiadas. Estos sistemas por lo general constan de mezclas de uno o más fosfolípidos de origen natural o sintético que pueden tratarse por usar **sonicación leve** para inducir la formación de vesículas esféricas en las cuales los lípidos forman una bicapa. Esas vesículas, rodeadas por una bicapa lipídica con un interior acuoso, se llaman **liposomas** (figura 21-24).

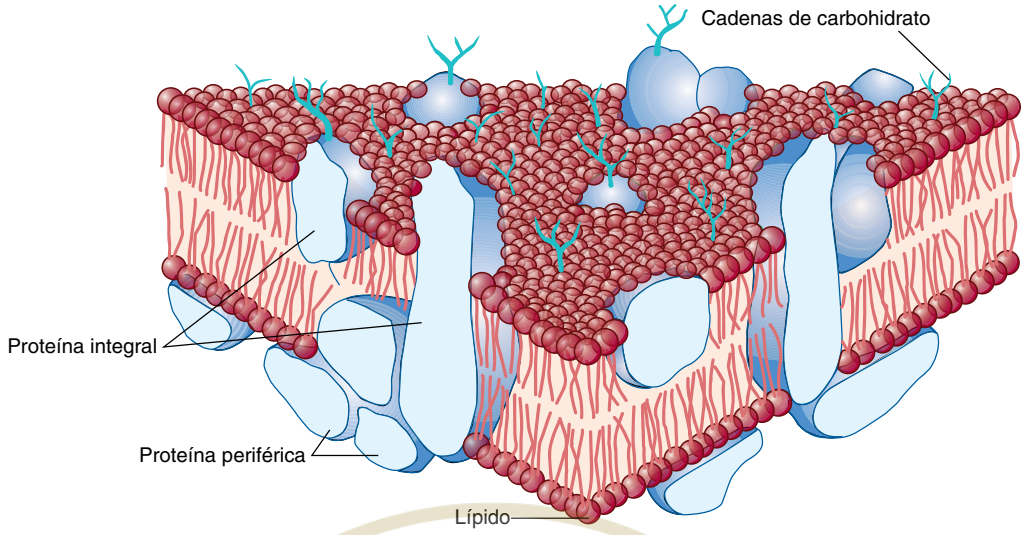


FIGURA 40-7 El modelo de mosaico fluido de la estructura de membrana. La membrana consta de una capa lipídica bimolecular con proteínas insertadas en ella o unidas a una u otra superficie. Las proteínas de membrana integrales están firmemente embebidas en las capas de lípido. Algunas de estas proteínas abarcan por completo la bicapa y reciben el nombre de proteínas transmembrana, mientras que otras están embebidas en la hojuela externa o interna de la bicapa lipídica. Las proteínas periféricas están laxamente unidas a la superficie externa o interna de la membrana. Muchas de las proteínas y todos los glucolípidos tienen cadenas de oligosacárido expuestas externamente. (Reproducido, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas*, 10th ed., McGraw-Hill, 2003).

Las ventajas y usos de los sistemas de membrana artificial para el estudio bioquímico de la función de membrana son:

1. El **contenido de lípido** de las membranas se puede variar, lo que permite el examen sistemático de los efectos de la variación de la composición de lípido sobre ciertas funciones.
2. Las **proteínas o enzimas de membranas purificadas** pueden incorporarse hacia estas vesículas para evaluar qué factores (p. ej., lípidos específicos o proteínas auxiliares) requieren las proteínas para reconstituir su función.
3. El **ambiente** de estos sistemas se puede controlar de manera rígida y variar de modo sistemático (p. ej., concentraciones de ion, ligandos).
4. Cuando se forman liposomas, puede hacerse que atrapen ciertos compuestos dentro de sí mismos, como medicamentos y genes aislados. Hay interés por el uso de liposomas para distribuir fármacos hacia ciertos tejidos y si los componentes (p. ej., anticuerpos contra ciertas moléculas de superficie celular) pudieran incorporarse hacia lisosomas de manera que se dirigieran hacia tejidos o tumores específicos, las repercusiones terapéuticas serían considerables. El DNA atrapado dentro de liposomas parece ser menos sensible al ataque por nucleasas; este método puede resultar útil en intentos de **terapia génica**.

EL MODELO DE MOSAICO FLUIDO DE LA ESTRUCTURA DE MEMBRANA ES AMPLIAMENTE ACEPTADO

El **modelo de mosaico fluido** de la estructura de membrana propuesto en 1972 por Singer y Nicolson (figura 40-7) ahora es ampliamente aceptado. El modelo a menudo se compara con "icebergs" de proteína de membrana integral que flotan en un mar de (predominantemente) moléculas de fosfolípido fluidas. La evidencia temprana para el modelo fue el hallazgo de que podía verse al microscopio que proteínas de membrana integrales marcadas con fluorescencia, bien caracterizadas, se redistribuyen con rapidez y al azar dentro de la membrana plasmática de una célula híbrida formada por la fusión artificial de dos células parentales (murina y de humano) diferentes (una marcada y la otra no). Posteriormente se ha demostrado que los **fosfolípidos** pasan por difusión lateral aún más rápida con redistribución subsiguiente dentro del plano de la membrana. Las mediciones indican que dentro de dicho plano, una molécula de fosfolípido puede moverse varios micrómetros por segundo.

Los **cambios de fase** (y, así, la **fluidez** de las membranas) dependen en gran parte de la composición de lípido de la membrana. En una bicapa lipídica, las cadenas hidrofóbicas de los ácidos grasos pueden estar muy alineadas u ordenadas para proporcionar una estructura más bien rígida. A medida que se incrementa la temperatura, las cadenas laterales hidrofóbicas pasan por una **transición** desde el **estado ordenado** (fase más parecida a gel o cristalina) hacia uno **desordenado**, adoptando una disposición más parecida a líquido o fluida. La temperatura a la cual la estructura pasa por la transición desde ordenada hacia desordenada (es decir, se fusiona) se llama la **"temperatura de transición"** (T_m). Las cadenas de ácidos grasos más largas y más saturadas interactúan más fuertemente entre sí mediante sus cadenas de hidrocarburo más largas y, de este modo, causan valores más altos de T_m; esto es, se necesitan temperaturas más altas para aumentar la fluidez de la bicapa. Por otro lado, los **enlaces insaturados** que existen en la **configuración *cis*** tienden a incrementar la fluidez de una bicapa al disminuir lo compacto de la aglomeración de la cadena lateral sin producir decremento de la hidrofobicidad (figuras 40-3 y 40-5). Los fosfolípidos de membranas celulares generalmente contienen al menos un ácido graso insaturado con por lo menos un enlace doble *cis*.

El **colesterol** actúa como un amortiguador que modifica la fluidez de las membranas. A temperaturas por debajo de la T_m, interfiere con la interacción de las colas de hidrocarburo de ácidos grasos y, de esta manera, aumenta la fluidez. A temperaturas por arriba de T_m, limita el desorden porque es más rígido que las colas de hidrocarburo de los ácidos grasos y no puede moverse en la membrana al mismo grado, lo que limita la fluidez. A proporciones altas entre colesterol y fosfolípidos, las temperaturas de transición son del todo indistinguibles.

La fluidez de una membrana afecta de modo significativo sus funciones. Conforme la fluidez de membrana se incrementa, también lo hace su permeabilidad al agua y otras moléculas hidrofílicas pequeñas. La movilidad lateral de proteínas integrales aumenta a medida que la fluidez de la membrana se incrementa. Si el sitio activo de una proteína integral involucrada en una función dada está exclusivamente en sus regiones hidrofílicas, el cambio de la fluidez de lípido quizá tendrá poco efecto sobre la actividad de la proteína; con todo, si la proteína participa en una función de transporte en la cual los componentes de transporte abarcan la membrana, los efectos de la fase lipídica pueden alterar de manera importante el índice de transporte. El receptor de insulina es un excelente ejemplo de función alterada con los cambios de la fluidez. Conforme se aumenta la concentración de ácidos grasos insaturados en la membrana (al cultivar células en un medio rico en esas moléculas), la fluidez se incrementa. La fluidez aumentada altera el receptor de modo que se une a más insulina. A la temperatura corporal normal (37 °C), la bicapa lipídica se encuentra en un estado fluido. Se ha mostrado que las bacterias pueden modificar la composición de sus lípidos de membrana para adaptarse a cambios de temperatura, lo que subraya la importancia de la fluidez de membrana.

Las balsas de lípido, caveolas y zonas de oclusión (uniones intercelulares herméticas) son características especializadas de las membranas plasmáticas

Las membranas plasmáticas contienen **ciertas estructuras especializadas** cuyas naturalezas bioquímicas se han investigado con cierto detalle.

Las **balsas de lípido** son áreas especializadas de la hojuela exoplásmica de la bicapa lipídica, enriquecidas con colesterol, esfingolípidos y ciertas proteínas (**figura 40-8**). Participan en la **transducción de señal** y en **otros procesos**. Se cree que la agrupación de ciertos componentes de sistemas de señalización estrechamente juntos quizás aumente la eficiencia de su función.

Las **caveolas** pueden derivarse de las balsas de lípido. Muchas, si no es que todas, contienen la proteína **caveolina-1**, que tal vez participe en su formación a partir de balsas. Las caveolas son observables por medio de microscopia electrónica como indentaciones en forma de matraz de la membrana celular que miran hacia el citosol (**figura 40-9**). Las proteínas detectadas en caveolas comprenden varios componentes del sistema de transducción de señal (p. ej., el receptor de insulina y algunas proteínas G), el receptor de folato, y la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). Las caveolas y las balsas de lípido son áreas de investigación activa, y las ideas respecto a ellas y sus posibles funciones en diversos procesos biológicos están evolucionando con rapidez.

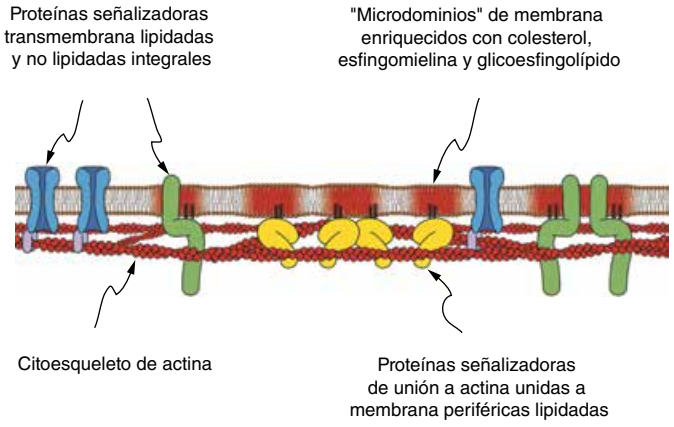


FIGURA 40-8 Diagrama esquemático de una balsa lipídica. Se muestran en forma esquemática múltiples balsas lipídicas (sombreado de membrana rojo) que representan microdominios localizados ricos en los lípidos y las proteínas señalizadoras indicados (azul, verde, amarillo). Las balsas lipídicas son estabilizadas por medio de interacciones (directas e indirectas) con el citoesqueleto de actina (cadenas bihelicoidales rojas; figura 51-3). (Figura modificada de: The lipid raft hypothesis revisited—new insights on raft composition and function from super-resolution fluorescence microscopy. Bioessays 2012;34:739-747. Wiley Periodical, Inc. Copyright © 2012).

Las **zonas de oclusión** (uniones intercelulares herméticas) son otras estructuras que se encuentran en membranas de superficie. A menudo están localizadas por debajo de las superficies apicales de células epiteliales y **evitan la difusión de macromoléculas entre células**. Están compuestas de **diversas proteínas**, entre ellas ocludina, diversas claudinas y moléculas de adherencia de unión.

Aún **otras estructuras especializadas** que se encuentran en membranas de superficie son **desmosomas**, **uniones adherentes** y **microvellosidades**; sus naturalezas y funciones químicas no se comentan aquí. La naturaleza de las **uniones intercelulares comunicantes** se describe más adelante.

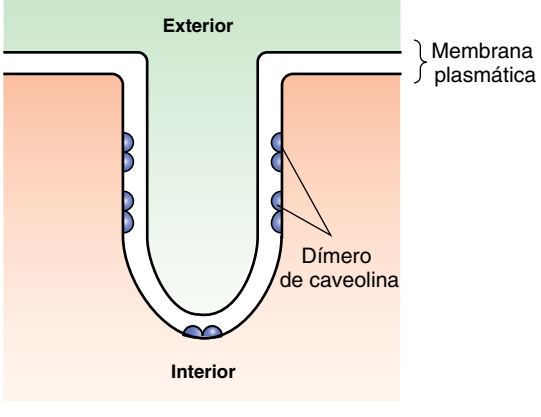


FIGURA 40-9 Diagrama esquemático de una caveola. Una caveola es una invaginación en la membrana plasmática. La proteína caveolina parece tener importancia en la formación de caveolas, y se encuentra como un dímero. Cada monómero de caveolina está fijo a la hojuela interna de la membrana plasmática mediante tres moléculas de palmitoilo (que no se muestran).

LA SELECTIVIDAD DE MEMBRANA PERMITE AJUSTES DE LA COMPOSICIÓN Y LA FUNCIÓN CELULARES

Si la membrana plasmática es relativamente impermeable, ¿de qué manera casi todas las moléculas entran en una célula? ¿De qué modo se establece la selectividad de este movimiento? Las respuestas a esas preguntas son importantes para entender cómo las células se ajustan a un ambiente extracelular en cambio constante. Los organismos metazoarios también deben tener medios de comunicación entre células adyacentes y distantes, de modo que puedan coordinarse los procesos biológicos complejos; estas señales deben llegar a la membrana y ser transmitidas por la misma, o generarse como consecuencia de alguna interacción con la membrana. En el **cuadro 40-3** se listan algunos de los mecanismos principales usados para lograr estos tres diferentes objetivos.

La difusión pasiva que incluye transportadores y canales de ion mueve muchas moléculas pequeñas a través de membranas

Las moléculas pueden atravesar **de manera pasiva** la bicapa a favor de gradientes electroquímicos mediante **difusión simple** o por medio de **difusión facilitada**. Este movimiento espontáneo hacia el equilibrio contrasta con el **transporte activo**, que **requiere energía** porque constituye movimiento contra un gradiente electroquímico. En la **figura 40-10** se proporciona una representación esquemática de estos mecanismos.

CUADRO 40-3 Transferencia de material e información a través de membranas

Movimiento de moléculas pequeñas a través de membrana
Difusión (pasiva y facilitada)
Transporte activo
Movimiento de moléculas grandes a través de membrana
Endocitosis
Exocitosis
Transmisión de señal a través de membranas
Receptores de superficie celular
1. Transducción de señal (p. ej., glucagón → cAMP) 2 Internalización de señal (acoplada con endocitosis, p. ej., el receptor de LDL)
Movimiento hacia receptores intracelulares (hormonas esteroides; una forma de difusión)
Contacto y comunicación intercelulares
Difusión pasiva (simple) es el flujo de soluto desde una concentración más alta hacia una más baja debido a movimiento térmico al azar
Difusión facilitada es el transporte pasivo de un soluto desde una concentración más alta hacia una más baja, mediado por un transportador proteínico específico
Transporte activo es el transporte de un soluto a través de una membrana en la dirección de concentración creciente, y esto requiere energía (a menudo derivada de la hidrólisis de ATP); está involucrado un transportador específico (bomba)

Los otros términos que se usan en este cuadro se explican más adelante en este capítulo o en otro lugar en este libro.

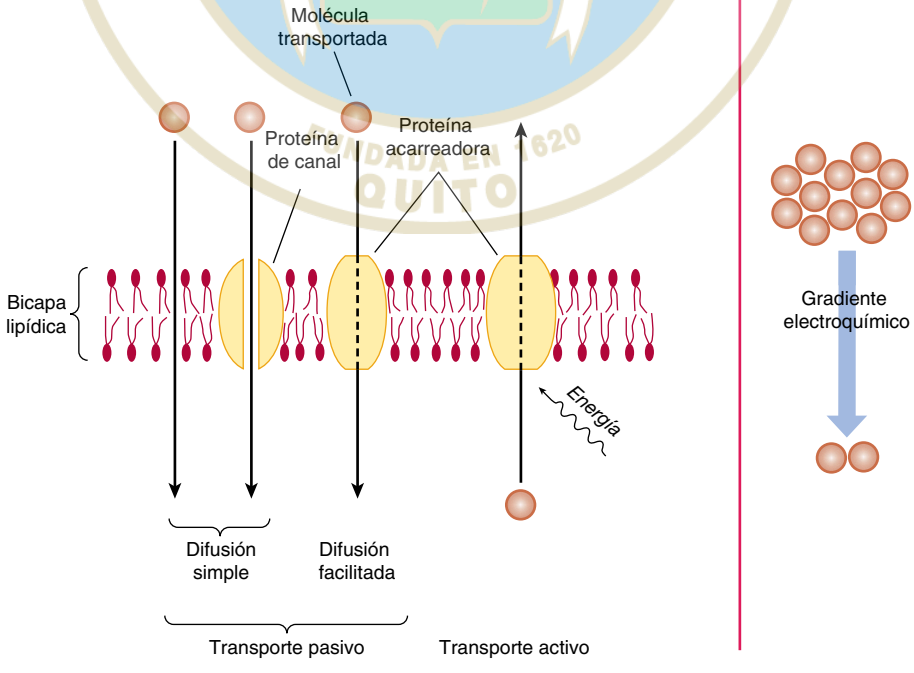


FIGURA 40-10 Muchas moléculas pequeñas, sin carga, pasan libremente a través de la bicapa lipídica por medio de difusión simple. Las moléculas de mayor tamaño sin carga, y algunas moléculas pequeñas sin carga, se transfieren mediante proteínas acarreadoras específicas (transportadores) o a través de canales o poros. El transporte pasivo siempre va a favor de un gradiente electroquímico, hacia el equilibrio. El transporte activo va contra un gradiente electroquímico y requiere un aporte de energía, no así el transporte pasivo. (Redibujado y reproducido, con autorización, de Alberts B *et al.: Molecular Biology of the Cell*. Garland, 1983).

La difusión simple es el flujo pasivo de un soluto desde una concentración más alta hacia una más baja debido al movimiento térmico al azar. En contraste, la **difusión facilitada** es el transporte pasivo de un soluto desde una concentración más alta hacia una más baja, mediado por un transportador proteínico específico. El **transporte activo** es el transporte de un soluto a través de una membrana contra un gradiente de concentración y, así, necesita energía (que suele derivarse de la hidrólisis de ATP); participa un transportador específico (**bomba**).

Como se mencionó en este capítulo, algunos solutos, como los gases, pueden entrar en la célula mediante difusión a favor de un gradiente electroquímico a través de la membrana, y no requieren energía metabólica. La **difusión simple** de un soluto a través de la membrana está limitada por tres factores: 1) la agitación térmica de esa molécula específica, 2) por el gradiente de concentración a través de la membrana, y 3) por la solubilidad de ese soluto (el coeficiente de permeabilidad, figura 40-6) en el centro hidrofóbico de la bicapa de la membrana. La solubilidad es inversamente proporcional al número de enlaces de hidrógeno que es necesario que se rompan para que un soluto en la fase acuosa externa quede incorporado en la bicapa hidrofóbica. Los electrólitos, poco solubles en lípido, no forman enlaces de hidrógeno con agua, pero adquieren una concha de agua por hidratación por medio de interacción electrostática. El tamaño de la concha es directamente proporcional a la densidad de carga del electrólito. Los electrólitos con una densidad de carga grande tienen una concha de hidratación de mayor tamaño y, de este modo, un índice de difusión más lento; por ejemplo, el Na^+ tiene una densidad de carga más alta que el K^+. Así, el Na^+ hidratado es de mayor tamaño que el K^+ hidratado; por tanto, este último tiende a moverse con mayor facilidad a través de la membrana.

Los factores que siguen afectan la **difusión neta** de una sustancia: 1) su gradiente de concentración a través de la membrana. Los solutos se mueven desde concentración alta hacia baja. 2) El potencial eléctrico a través de la membrana. Los solutos se mueven hacia la solución que tiene la carga opuesta. El interior de la célula por lo general tiene una carga negativa. 3) El coeficiente de permeabilidad de la sustancia para la membrana. 4) El gradiente de presión hidrostático a través de la membrana. La presión incrementada aumentará el índice y la fuerza de la colisión entre las moléculas y la membrana. 5) Temperatura. La temperatura incrementada aumentará el movimiento de partículas y, de esta manera, incrementará la frecuencia de las colisiones entre partículas externas y la membrana.

La **difusión facilitada** comprende sea ciertos transportadores o canales iónicos (**figura 40-11**). El transporte activo está mediado por otros transportadores, la mayor parte de los cuales están impulsados por ATP. Muchos transportadores y canales existen en las membranas biológicas que dirigen la entrada de iones a las células y la salida de iones desde estas últimas. En el **cuadro 40-4** se resumen algunos puntos importantes de la diferencia entre transportadores y canales de ion.

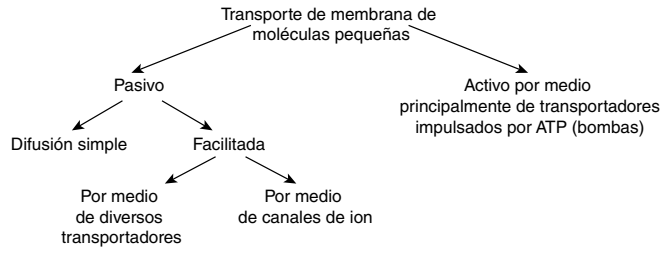


FIGURA 40-11 Diagrama esquemático de los dos tipos de transporte de membrana de moléculas pequeñas.

CUADRO 40-4 Comparación de transportadores y canales de ion

Transportadores	Canales de ion
Se unen a soluto y pasan por cambios conformacionales, transfiriendo el soluto a través de la membrana	Forman poros en membranas
Involucrados en el transporte pasivo (difusión facilitada) y activo	Involucrados sólo en el transporte pasivo
El transporte es significativamente más lento que por medio de canales de ion	El transporte es significativamente más rápido que por medio de transportadores

Nota: los transportadores también se conocen como acarreadores o permeasas. Los transportadores activos a menudo se llaman bombas.

Los transportadores son proteínas específicas involucradas en la difusión facilitada y en el transporte activo

Los sistemas de transporte pueden describirse en un sentido funcional de acuerdo con el número de moléculas movidas y la dirección del movimiento (**figura 40-12**), o de acuerdo con si el movimiento es hacia el equilibrio o en dirección contraria a este último. La **clasificación** que sigue depende principalmente del primer aspecto. Un sistema de **uniporte** mueve un tipo de molécula de modo bidireccional. En sistemas de **cotransporte**, la transferencia de un soluto depende de la transferencia simultánea o secuencial estoiquiométrica de otro soluto. Un **simporte** mueve dos solutos en la misma dirección. Los ejemplos son el transportador de protón-azúcar en bacterias, y los transportadores de

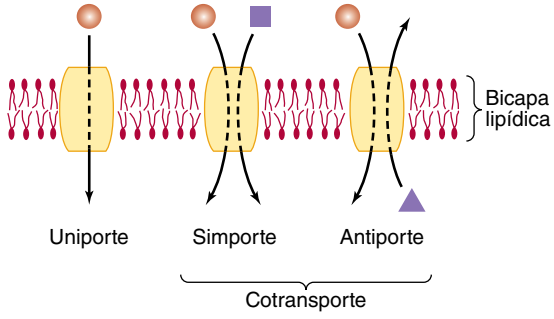


FIGURA 40-12 Representación esquemática de los tipos de sistemas de transporte. Los transportadores pueden clasificarse respecto a la dirección del movimiento y al hecho de si una o más moléculas únicas se mueven. Un uniporte también puede permitir el movimiento en la dirección opuesta, dependiendo de las concentraciones dentro y fuera de una célula de la molécula transportada. (Redibujado y reproducido, con autorización, de Alberts B *et al.*: *Molecular Biology of the Cell*. Garland, 1983).

NA^+-azúcar (para glucosa y algunos otros azúcares), y transportadores de Na^+-aminoácido en células de mamífero. Los sistemas de **antiporte** mueven dos moléculas en direcciones opuestas (p. ej., Na^+ hacia adentro, y Ca^{2+} hacia afuera).

Las moléculas hidrofílicas que no pueden pasar libremente a través de la membrana bicapa lipídica lo hacen de manera pasiva mediante **difusión facilitada** o por medio de **transporte activo**. El transporte pasivo es impulsado por el gradiente transmembrana del sustrato. El transporte activo siempre ocurre contra un gradiente eléctrico o químico y, así, necesita energía, regularmente ATP. Ambos tipos de transporte incluyen **proteínas acarreadoras específicas** (transportadores), y ambos muestran **especificidad** por iones, azúcares y aminoácidos. El transporte pasivo y activo **semeja una interacción entre sustrato y enzima.** Los puntos de semejanza de ambos con la acción enzimática son: 1) hay un sitio de unión específico para el soluto. 2) El acarreador es saturable, de modo que hay un índice de transporte máximo ($V_{máx}$; **figura 40-13**). 3) Hay una constante de unión (K_m) para el soluto y, de esta manera, todo el sistema tiene una K_m (figura 40-13). 4) Inhibidores competitivos similares en el aspecto estructural bloquean el transporte. De este modo, los transportadores son como enzimas, pero en general no modifican sus sustratos.

Los **cotransportadores** usan el gradiente de un sustrato creado mediante transporte activo para impulsar el movimiento del otro sustrato. El gradiente de Na^+ producido por la Na^+-K^+-ATPasa se usa para impulsar el transporte de diversos metabolitos importantes. La ATPasa es un ejemplo muy importante de **transporte primario**, mientras que los sistemas dependientes de Na^+ son ejemplos de **transporte secundario** que depende del gradiente producido por otro sistema. Así, la inhibición de la Na^+-K^+-ATPasa en las células también bloquea la captación (dependiente de Na^+) de sustancias como la glucosa.

La difusión facilitada está mediada por diversos transportadores específicos

Algunos solutos específicos se difunden a favor de gradientes electroquímicos a través de membranas con mayor rapidez de lo que podría esperarse a partir de su tamaño, carga, o coeficiente de partición; esto se debe a la participación de transportadores específicos. Esta **difusión facilitada** muestra proteínas distintas de las de la difusión simple. El índice de difusión facilitada, un sistema de uniporte, se puede saturar; de modo que el número de sitios involucrados en la difusión de los solutos específicos parece ser finito. Muchos sistemas de difusión facilitada son estereoespecíficos pero, al igual que la difusión simple, están impulsados por el gradiente electroquímico transmembrana.

Un **mecanismo de "ping-pong"** (**figura 40-14**) ayuda a explicar la difusión facilitada. En este modelo, la proteína acarreadora existe en dos conformaciones principales. En el estado **"ping"**, está expuesta a cifras altas de soluto, y las moléculas de este último se unen a sitios específicos en la proteína acarreadora. La unión induce un cambio conformacional que expone al acarreador a una concentración más baja de soluto (estado **"pong"**). Este proceso es por completo reversible, y el flujo neto a través de la membrana depende del gradiente de concentración. El índice al cual los solutos entran en una célula por medio de difusión facilitada está determinado por: 1) el gradiente de concentración a través de la membrana. 2) La cantidad de acarreador disponible (éste es un paso de control clave). 3) La afinidad de la interacción entre soluto y acarreador. 4) La rapidez del cambio conformacional para el acarreador tanto cargado como el descargado.

Las **hormonas** pueden regular la difusión facilitada al cambiar el número de transportadores disponibles. La insulina mediante una vía de señalización compleja aumenta el transporte de glucosa en la grasa y el músculo al reclutar transportadores de glucosa (GLUT) que provienen de un reservorio intracelular. Asimismo, la insulina incrementa el transporte de aminoácidos en el hígado y otros tejidos. Una de las acciones coordinadas de las hormonas glucocorticoides es aumentar el transporte de aminoácidos hacia el hígado, donde los aminoácidos sirven entonces como un sustrato para la gluconeogénesis. La hormona de crecimiento incrementa el transporte de aminoácidos hacia todas las células, y los estrógenos hacen esto en el útero. Hay al menos cinco sistemas acarreadores diferentes para aminoácidos en células de animales. Cada uno es específico para un grupo de aminoácidos estrechamente relacionados, y casi todos operan como sistemas de simporte de Na^+ (figura 40-12).

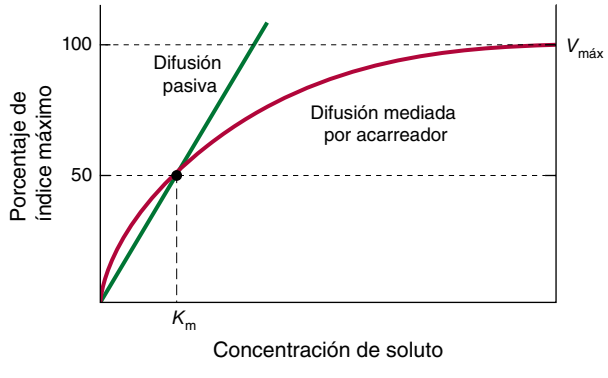


FIGURA 40-13 Una comparación de la cinética de difusión mediada por acarreador (facilitada) con la difusión pasiva. El índice de movimiento en esta última es directamente proporcional a las cifras de soluto, mientras que el proceso es saturable cuando hay acarreadores comprendidos. La concentración a velocidad de la mitad del máximo es igual a la constante de unión (K_m) del acarreador para el soluto. ($V_{máx}$, índice máximo).

Los canales de iones son proteínas transmembrana que permiten la entrada selectiva de diversos iones

Las membranas naturales contienen canales transmembrana, estructuras tipo poro compuestas de proteínas que constituyen **canales de iones** selectivos. Los canales que conducen catión tienen un diámetro promedio de alrededor de 5 a 8 nm. La **permeabilidad** de un canal depende del tamaño, la extensión de la hidratación, y la magnitud de la densidad de carga sobre el ion. Se han identificado canales específicos para Na^+, K^+, Ca^{2+}, y Cl^-. En la **figura 40-15** se ilustra esquemáticamente la subunidad α funcional de un canal de Na^+. La subunidad α está compuesta de cuatro dominios (I a IV) cada uno de los cuales está formado por seis hélices α transmembrana contiguas; cada uno de estos dominios está conectado por asas intracelulares y extracelulares de longitud variable. Las terminaciones amino y carboxi de la subunidad α están localizadas en el citoplasma. El poro real en el canal a través

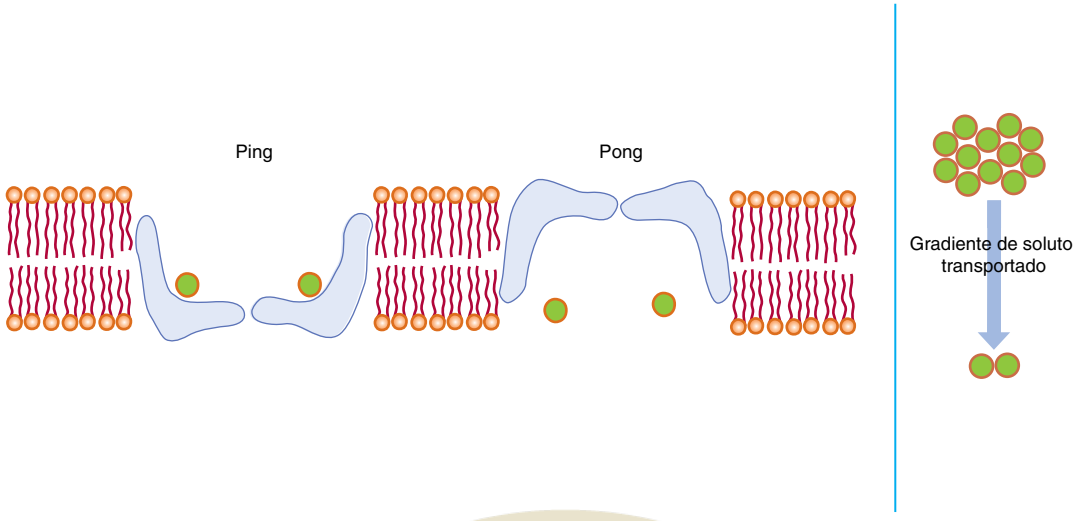


FIGURA 40-14 El modelo de "ping-pong" de difusión facilitada. Un transportador de proteína (estructura azul) en la bicapa lipídica se asocia con un soluto en concentración alta en un lado de la membrana. Surge un cambio conformacional (de "ping" a "pong"), y el soluto es descargado en el lado que favorece el nuevo equilibrio (el gradiente de concentración de soluto se muestra esquemáticamente, derecha). El transportador vacío a continuación se revierte a la conformación original (de "pong" a "ping") para completar el ciclo.

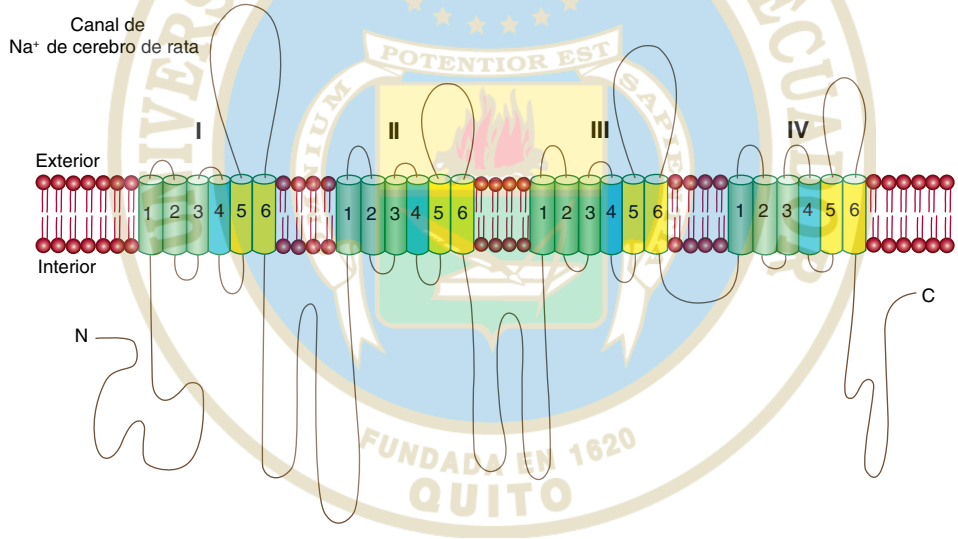


FIGURA 40-15 Representación diagramática de las estructuras de un canal iónico (un canal de Na^+ de cerebro de rata). Los números romanos indican los cuatro dominios (I a IV) de la subunidad α del canal de Na^+. Los dominios de hélice α transmembrana de cada dominio están numerados del 1 al 6. Las cuatro subunidades sombreadas de azul en los diferentes dominios representan la porción de la subunidad α detectora de voltaje. No se muestra el poro real a través del cual pasan los iones (Na^+), pero se forma por aposición de las hélices α transmembrana 5 y 6 de los dominios I a IV (coloreado de amarillo). Tampoco se indican las áreas específicas de las subunidades involucradas en la abertura y el cierre del canal. (Según WK Catterall. Modificado y reproducido, con autorización, de Hall ZW: *An Introduction to Molecular Neurobiology*. Sinauer, 1992).

del cual pasan iones de Na^+ se forma por interacciones entre los cuatro dominios, lo cual genera una estructura terciaria por interacciones entre los cuatro grupos de 5,6 α-hélices de los dominios I a IV. Los canales de Na^+ a menudo son **sensibles a voltaje**; el sensor de voltaje del canal se forma mediante la interacción del dominio I-IV; las cuatro α-hélices-4 se forman cuando los dominios I a IV interactúan. Este poro de ~ 5 a 8 nm constituye el centro de la estructura del canal terciario. Los canales de ion son muy **selectivos**; casi siempre permiten el paso de sólo un tipo de ion (Na^+, Ca^{2+}, etc.). El **filtro de selectividad** de canales de K^+ está constituido por un anillo de grupos carbonilo donados por las subunidades. Los carbonilos desplazan el agua unida desde el ion y, de esta manera, restringen su tamaño a dimensiones precisas apropiadas para paso por el canal. Se encuentran muchas variaciones del tema estructural anterior para el canal Na^+, pero todos los canales de ion básicamente están formados de unidades transmembrana que se unen para formar un poro central a través del cual los iones pasan de modo selectivo.

CUADRO 40-5 Algunas propiedades de los canales de ion

- Están compuestos de subunidades de proteína transmembrana.
- Casi todos son muy selectivos para un ion; algunos son no selectivos.
- Permiten que iones impermeables crucen membranas a índices que se aproximan a los límites de difusión.
- Pueden permitir flujos de ion de 10^6 a 10^7/s.
- Sus actividades están reguladas.
- Los principales tipos son activado por voltaje, activado por ligando, y de compuerta mecánica.
- Por lo general están muy conservados a través de las especies.
- Casi todas las células tienen diversos canales de Na^+, K^+, Ca^{2+} y Cl^-.
- Las mutaciones en genes que codifican para ellos pueden causar enfermedades específicas.[a]
- Sus actividades son afectadas por ciertos fármacos.

[a] Algunas enfermedades causadas por mutaciones de canales de iones se comentan brevemente en el capítulo 49.

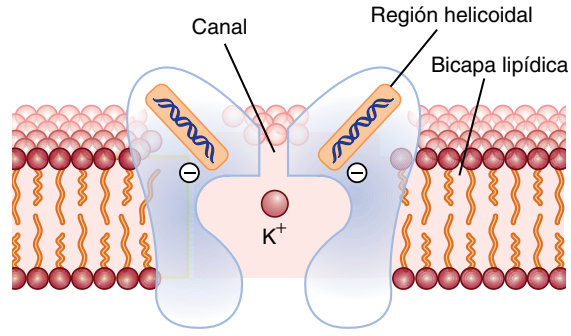


FIGURA 40-16 Diagrama esquemático de la estructura de un canal de K^+ (KvAP) de *Streptomyces lividans*. Un K^+ único se muestra en una cavidad acuosa grande dentro del interior de la membrana. Dos regiones helicoidales de la proteína del canal están orientadas con sus extremos carboxilato señalando hacia dónde está localizado el K^+. El canal está revestido por oxígeno carboxilo. (Modificado, con autorización, de Doyle DA *et al*. "The Structure of the Potassium Channel: Molecular Basis of K^+ Conduction and Selectivity". Science 1998;280:69. Reimpreso con permiso de AAAS).

Las membranas de células nerviosas contienen canales de iones bien estudiados que se encargan de la generación de potenciales de acción. La actividad de algunos de estos canales está controlada por neurotransmisores; en consecuencia, la actividad de canal se puede regular.

Los canales del ion se abren de manera transitoria y, de este modo, tienen **"compuerta"**. Las compuertas se pueden controlar al abrirse o cerrarse. En **canales activados por ligando**, una molécula específica se une a un receptor y abre el canal. Los **canales activados por voltaje** se abren (o se cierran) en respuesta a cambios del potencial de membrana. Los **canales con compuerta mecánica** muestran respuesta a estímulos mecánicos (presión, tacto). En los **cuadros 40-4** y **40-5** se listan algunas propiedades de los canales de iones.

Estudios detallados de un canal de K^+ y de un canal activado por voltaje han proporcionado información importante en cuanto a sus acciones

Hay por lo menos cuatro características de los canales de ion que deben elucidarse: 1) su estructura general; 2) cómo conducen los iones con tanta rapidez; 3) su selectividad, y 4) sus propiedades de compuerta. Como se describe más adelante, se ha logrado considerable progreso en abordar estos problemas difíciles.

El **canal de K^+** (KvAP) es una proteína de membrana integral compuesta de cuatro subunidades idénticas, cada una con dos segmentos transmembrana, lo que crea una estructura parecida a **"V" invertida** (**figura 40-16**). La parte de los canales que confiere selectividad para ion (el **filtro de selectividad**) mide 12 A de largo (un tramo relativamente corto de la membrana, de manera que el K^+ no tiene que viajar mucho en ella) y está situado en el extremo ancho de la "V" invertida. La cavidad grande, llena de agua, y los dipolos helicoidales que se muestran en la figura 40-16 ayudan a superar la barrera de energía electrostática relativamente grande para que un catión cruce la membrana. El filtro de selectividad está revestido con átomos de oxígeno carbonilo (aportados por una secuencia de TVGYG), lo que proporciona varios sitios con los cuales el K^+ puede interactuar. Los iones de K^+, que se deshidratan a medida que entran al filtro de selectividad estrecho, se adaptan con coordinación apropiada hacia el filtro, pero el Na^+ es demasiado pequeño como para interactuar con los átomos de oxígeno carbonilo en la alineación correcta, y se rechaza. Dos iones de K^+, cuando se acercan uno a otro en el filtro, se repelen entre sí. Esta repulsión vence interacciones entre el K^+ y la molécula de proteína circundante, y permite conducción muy rápida de K^+ con selectividad alta.

Otros estudios sobre un **canal de ion activado por voltaje** (HvAP) en *Aeropyrum pernix* han revelado muchas características de sus mecanismos de detección de voltaje y de sensibilidad a voltaje; este canal está formado de cuatro subunidades, cada una con seis segmentos transmembrana. Uno de los seis segmentos (S4 y parte de S3) es el sensor de voltaje. Se comporta como un **remo cargado** (**figura 40-17**), por cuanto puede moverse por el interior de la membrana transfiriendo cuatro cargas positivas (debido a cuatro residuos Arg en cada subunidad) desde una superficie de membrana hacia otra en respuesta a cambios de voltaje. Hay cuatro sensores de voltaje en cada canal, enlazados a la compuerta. La parte compuerta del canal está construida de hélices S6 (una desde cada una de las subunidades). Los movimientos de esta parte del canal en respuesta a voltaje cambiante cierran con eficacia el canal o lo vuelven a abrir; en este último caso permiten que cruce una corriente de iones.

Los ionóforos son moléculas que actúan como transbordadores de membrana para diversos iones

Ciertos microbios sintetizan moléculas orgánicas cíclicas pequeñas, **ionóforos, como la valinomicina**, que funcionan como transbordadores para el movimiento de iones (K^+ en el caso de la valinomicina a través de membranas. Los ionóforos contienen centros hidrofílicos que están rodeados por regiones hidrofóbicas periféricas. Iones específicos se unen dentro del centro hidrofílico de la molécula, que a continuación se difunde a través de la membrana y suministra con eficiencia el ion en cuestión al citosol. Otros ionóforos (el antibiótico polipeptídico **gramicidina**) se pliegan para formar canales huecos a través de los cuales iones pueden cruzar la membrana.

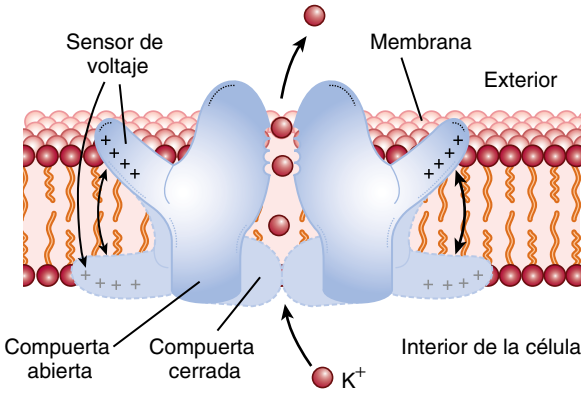


FIGURA 40-17 Diagrama esquemático del canal de K^+ activado por voltaje de *Aeropyrum pernix*. Los sensores de voltaje se comportan como remos cargados que se mueven a través del interior de la membrana. Cuatro sensores de voltaje (aquí sólo se muestran dos) están enlazados mecánicamente a la compuerta del canal. Cada sensor tiene cuatro cargas positivas aportadas por residuos arginina. (Modificado, con autorización, de Sigworth FJ: Nature 2003;423:21. Copyright © 2003. Macmillan Publishers Ltd).

CUADRO 40-6 Principales tipos de transportadores activos impulsados por ATP

Tipo	Ejemplo con ubicación subcelular
Tipo P	Ca^{2+} ATPasa (SR); Na^+-K^+-ATPasa (PM)
Tipo F	mt ATP sintasa de fosforilación oxidativa
Tipo V	La ATPasa que bombea protones hacia lisosomas y vesículas sinápticas
Transportador ABC	Proteína CFTR (PM); proteína MDR-1 (PM)

La P (en el tipo P) significa fosforilación (estas proteínas se autofosforilan).
La F (en el tipo F) significa factores acopladores de energía.
La V (en el tipo V) significa vacuolar.
ABC significa transportador de casete de unión a ATP (todos tienen dos dominios de unión a nucleótido y dos segmentos transmembrana).
SR, retículo sarcoplásmico de músculo; PM, membrana plasmática; mt, mitocondrial; CFTR, proteína reguladora transmembrana de fibrosis quística, un transportador de Cl^-, y la proteína implicada en la causa de la fibrosis quística (véase más adelante en este capítulo, y el capítulo 57); proteína MDR-1 (proteína de resistencia a múltiples fármacos-1), proteína que bombea muchos agentes quimioterápicos hacia fuera de células cancerosas y, así, es un importante contribuidor a la resistencia de ciertas células cancerosas al tratamiento.

Las toxinas microbianas, como la **toxina diftérica** y **componentes de complemento sérico** activados, pueden producir poros grandes en membranas celulares y, así, proporcionan a macromoléculas acceso directo al medio interno. La toxina **hemolisina α** (producida por ciertas especies de *Streptococcus*) consta de siete subunidades que se unen para formar un barril β que permite el escape de metabolitos como ATP hacia fuera de las células, lo que suscita lisis celular.

Las acuaporinas son proteínas que forman canales de agua en ciertas membranas

En ciertas células (p. ej., eritrocitos, células de los conductillos colectores de los riñones), el movimiento de agua por medio de difusión simple aumenta por movimiento a través de **canales de agua**. Estos canales están compuestos de proteínas transmembrana tetraméricas denominadas **acuaporinas**. Se han identificado al menos 10 acuaporinas (AP-1 a AP-10). Estudios cristalográficos y de otros tipos han revelado de qué manera estos canales permiten el paso de agua pero excluyen el de iones y protones. En esencia, los poros son demasiado estrechos como para permitir el paso de iones. Los protones se excluyen por el hecho de que el átomo de oxígeno del agua se une a dos residuos asparagina que revisten el canal, lo que hace que el agua no esté disponible para participar en una retransmisión de H^+ y, de este modo, se impide la entrada de protones. Se ha mostrado que las mutaciones en el gen que codifica para AP-2 son la causa de un tipo de **diabetes insípida nefrogénica**, una afección en la cual hay incapacidad para concentrar la orina.

LOS SISTEMAS DE TRANSPORTE ACTIVO REQUIEREN UNA FUENTE DE ENERGÍA

El proceso del transporte activo difiere de la difusión por cuanto las moléculas se transportan contra gradientes de concentración; por ende, se necesita energía. Esta energía puede provenir de la hidrólisis de ATP, del movimiento de electrón, o de la luz. El **mantenimiento de gradientes electroquímicos** en sistemas biológicos tiene tanta importancia que consume aproximadamente **30% del gasto de energía total** en una célula.

Se han reconocido **cuatro clases importantes** de transportadores activos impulsados por ATP (transportadores **P**, **F**, **V** y **ABC**) (**cuadro 40-6**; la nomenclatura se explica en el pie del cuadro). El primer ejemplo de la clase P, la Na^+-K^+-ATPasa, se comenta a continuación. La Ca^{2+} ATPasa del músculo se comenta en el capítulo 51. Se hace referencia a la segunda clase como tipo F. El ejemplo más importante de esta clase es la mt ATP sintasa (capítulo 13). Los transportadores activos tipo V bombean protones hacia lisosomas y otras estructuras. Los transportadores ABC comprenden la proteína **CFTR**, un canal de cloruro incluido en el origen de la fibrosis quística (que se describe más adelante en este capítulo, y en el capítulo 58). Otro miembro importante de esta clase es la proteína de resistencia a múltiples fármacos-1 (proteína **MDR-1**). Este transportador bombea diversos fármacos hacia afuera de las células, entre ellos muchos agentes anticáncer. Es una causa muy importante de resistencia de células cancerosas a quimioterapia, aunque también están implicados muchos otros mecanismos.

La Na^+-K^+ ATPasa de la membrana plasmática es una enzima clave en la regulación de las concentraciones intracelulares de Na^+ y K^+

Las células mantienen una concentración intracelular baja de Na^+ y alta de K^+ (cuadro 40-1), junto con un potencial eléctrico negativo neto en el interior. La bomba que mantiene estos gradientes iónicos es una ATPasa que es activada por Na^+ y K^+ **(Na^+-K^+-ATPasa)**. La Na^+-K^+-ATPasa bombea tres Na^+ hacia afuera, y dos K^+ hacia adentro, de las células (**figura 40-18**). Esta bomba es una proteína de membrana integral que contiene un dominio transmembrana que permite el paso de iones y dominios citosólicos que acoplan la hidrólisis de ATP al transporte. Hay centros catalíticos tanto para ATP como para Na^+ en el lado citoplasmático (interno) de la membrana plasmática (PM), mientras que

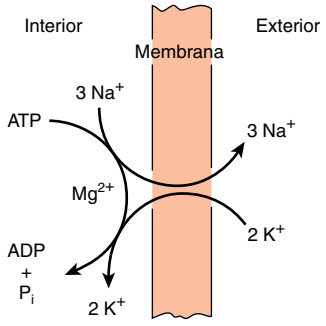


FIGURA 40-18 Estoiquiometría de la bomba de Na^+-K^+-ATPasa. Esta bomba mueve tres iones de NA^+ desde dentro de la célula hacia el exterior, y lleva dos iones de K^+ desde el exterior hacia el interior por cada molécula de ATP hidrolizada hacia ADP por la ATPasa asociada con membrana. La ouabaína y otros glucósidos cardiacos inhiben esta bomba al actuar sobre la superficie extracelular de la membrana. (Reimpreso con permiso de R Post).

hay sitios de unión a K^+ situados en el lado extracelular de la membrana. La fosforilación por ATP induce un cambio conformacional en la proteína, que lleva a la transferencia de tres iones de Na^+ desde el lado interno de la membrana plasmática hacia el externo. Dos moléculas de K^+ se unen a sitios sobre la proteína en la superficie externa de la membrana celular, lo cual da por resultado desfosforilación de la proteína, y transferencia de los iones de K^+ a través de la membrana al interior. Así, tres iones de Na^+ son transportados hacia afuera por cada dos iones de K^+ que entran. Este transporte iónico diferencial crea un desequilibrio de carga entre el interior de la célula y el exterior de la misma, lo que hace al interior de la célula más negativo (un efecto **electrogénico**). Dos fármacos cardíacos importantes en clínica, la **ouabaína** y los **digitálicos**, inhiben la Na^+-K^+-ATPasa al unirse al dominio extracelular. Esta enzima puede consumir cantidades importantes de energía de ATP celular. La Na^+-K^+-ATPasa puede acoplarse a varios otros transportadores, como los involucrados en el transporte de glucosa (véase más adelante).

LA TRANSMISIÓN DE IMPULSOS NERVIOSOS COMPRENDE CANALES DE ION Y BOMBAS

La membrana que encierra **células neuronales** mantiene una asimetría del voltaje interno-externo (potencial eléctrico) y también es **excitable con electricidad** debido a la presencia de canales activados por voltaje. Cuando se estimulan de modo apropiado mediante una señal química mediada por un receptor de membrana sináptica específico (véase la exposición sobre la transmisión de señales bioquímicas, más adelante), los canales en la membrana se abren para permitir el flujo rápido hacia dentro de Na^+ o Ca^{2+} (con o sin flujo de salida de K^+), de manera que la diferencia de voltaje se colapsa con rapidez y ese segmento de la membrana se **despolariza**. Aun así, como resultado de la acción de las bombas de ion en la membrana, el gradiente se restituye con rapidez.

Cuando áreas grandes de la membrana se **despolarizan** así, la alteración electroquímica se propaga en forma parecida a onda por la membrana, lo que genera un **impulso nervioso**. Las **láminas de mielina**, formadas por células de Schwann, envuelven a las fibras nerviosas y proporcionan un **aislante eléctrico** que rodea la mayor parte del nervio y acelera mucho la propagación de la onda (señal) al permitir que los iones fluyan hacia adentro y hacia afuera de la membrana únicamente donde esta última está libre del aislamiento (en los **nódulos de Ranvier**). La membrana de mielina tiene un alto contenido de *lípido*, lo que explica su excelente propiedad aislante. En la vaina de mielina se encuentran relativamente pocas proteínas; las que están presentes parecen mantener unidas múltiples bicapas de membrana para formar la estructura aislante hidrofóbica que es impermeable a iones y agua. Ciertas enfermedades, por ejemplo, esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barré, se caracterizan por desmielinización y conducción nerviosa alterada.

EL TRANSPORTE DE GLUCOSA INCLUYE VARIOS MECANISMOS

Una exposición del **transporte de glucosa** resume muchos de los puntos ya descritos. Es necesario que la glucosa entre en las células como el primer paso de la utilización de energía. Diversos transportadores de glucosa (GLUT) están involucrados, y varían en diferentes tejidos (cuadro 20-2). En **adipocitos y músculo esquelético**, la glucosa entra por medio de un sistema de transporte específico (GLUT4) incrementado por la insulina. Los cambios en el transporte se deben principalmente a alteraciones de la $V_{máx}$ (probablemente por más o menos transportadores), pero quizá también estén involucrados cambios de la K_m.

El transporte de glucosa en el intestino delgado comprende algunos aspectos diferentes de los principios de transporte antes comentados. La glucosa y el Na^+ se unen a diferentes sitios en un **simportador de Na^+-glucosa** localizado en la **superficie apical**. El Na^+ se mueve hacia la célula a favor de su gradiente electroquímico y "arrastra" glucosa con él (**figura 40-19**). Por consiguiente, cuanto mayor es el gradiente de Na, más glucosa entra; y si el Na^+ en el líquido extracelular está bajo, el transporte de glucosa cesa. Para mantener un gradiente de Na^+ alto, este simportador de Na^+-glucosa depende de gradientes generados por la Na^+-K^+-ATPasa, que mantiene una concentración intracelular baja de Na^+. Se usan mecanismos similares para el transporte de otros azúcares así como aminoácidos a través de la luz apical en células polarizadas como las que se encuentran en el intestino y los riñones. El movimiento transcelular de glucosa en este caso incluye un componente adicional: un uniporte (figura 40-19) que permite que la glucosa acumulada dentro de la célula se mueva a través de la **membrana basolateral**, y comprende **un uniportador de glucosa** (GLUT2).

En el tratamiento de casos graves de **diarrea** (como en el cólera) se hace uso de la información anterior. En el **cólera** (capítulo 57), pueden expulsarse cantidades masivas de líquido como heces acuosas en un tiempo muy breve, lo que ocasiona deshidratación grave, y posiblemente la muerte. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha creado la **terapia de rehidratación por vía oral**, que consta principalmente en **NaCl** y **glucosa**. El transporte de la glucosa y Na^+ a través del epitelio intestinal fuerza (mediante ósmosis) el movimiento de agua desde la luz del intestino hacia las células intestinales, lo que se traduce en rehidratación. La glucosa o el NaCl solos serían ineficaces.

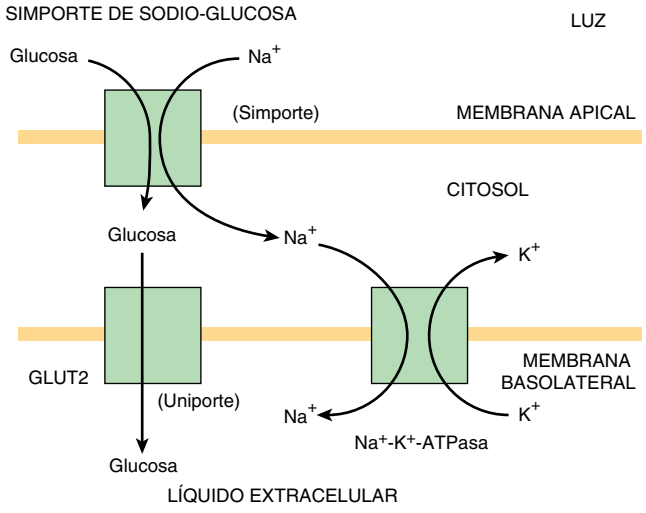


FIGURA 40-19 El movimiento transcelular de glucosa en una célula intestinal. La glucosa sigue al Na^+ a través de la membrana epitelial luminal. El gradiente de Na^+ que impulsa este simporte se establece por medio de intercambio de Na^+-K^+, que ocurre en la membrana basal que mira hacia el compartimiento de líquido extracelular mediante la acción de la Na^+-K^+-ATPasa. La glucosa a concentración alta dentro de la célula se mueve "cuesta abajo" hacia el líquido extracelular por medio de difusión facilitada (un mecanismo de uniporte), mediante GLUT2 (un transportador de glucosa, véase el cuadro 19-2). El simporte de sodio-glucosa en realidad acarrea 2 Na^+ por cada glucosa.

LAS CÉLULAS TRANSPORTAN CIERTAS MACROMOLÉCULAS A TRAVÉS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA POR MEDIO DE ENDOCITOSIS Y EXOCITOSIS

El proceso mediante el cual las células captan moléculas grandes se llama **endocitosis**. Algunas de estas moléculas (p. ej., polisacáridos, proteínas y polinucleótidos), cuando se hidrolizan dentro de la célula, **dan nutrientes**. La endocitosis también proporciona un mecanismo para **regular** el contenido de ciertos componentes de membrana; los receptores de hormona son un buen ejemplo. La endocitosis puede usarse para aprender más respecto a cómo funcionan las células. El DNA de un tipo de célula puede emplearse para llevar a cabo transfección hacia una célula diferente, y alterar la función o el fenotipo de esta última. En estos experimentos a menudo se emplea un gen específico, y esto proporciona un modo singular de estudiar y analizar la regulación de ese gen. La **transfección de DNA** depende de endocitosis, de la cual depende la entrada del DNA hacia la célula. En esos experimentos por lo general se usa fosfato de calcio, porque el Ca^{2+} estimula la endocitosis y precipita el DNA, lo que hace que el DNA sea un mejor objeto para endocitosis (capítulo 39). Asimismo, las células **liberan macromoléculas** por medio de **exocitosis**. Tanto la endocitosis como la exocitosis incluyen formación de vesícula con o desde la membrana plasmática.

La endocitosis involucra ingestión de partes de la membrana plasmática

Casi todas las células eucarióticas están reciclando de manera continua partes de su membrana plasmática. Las vesículas endocitóticas se generan cuando segmentos de la membrana plasmática se invaginan, y encierran un pequeño volumen de líquido extracelular y su contenido. La vesícula a continuación se separa conforme la fusión de las membranas plasmáticas sella el cuello de la vesícula en el sitio de invaginación original (**figura 40-20**). La membrana de bicapa lipídica, o **vesícula** así generada, se fusiona con otras estructuras de membrana y, de este modo, logra el transporte de su contenido hacia otros compartimientos celulares o incluso de regreso hacia el exterior de la célula. Casi todas las vesículas endocitóticas se fusionan con **lisosomas primarios** para formar **lisosomas secundarios**, que contienen enzimas hidrolíticas y, por tanto, son organelos especializados para la eliminación intracelular. El contenido macromolecular se digiere para dar aminoácidos, azúcares simples, o nucleótidos, y se transportan hacia afuera de las vesículas para que la célula los reutilice. La endocitosis requiere: 1) energía, por lo general proveniente de la hidrólisis de ATP; 2) Ca^{2+}, y 3) elementos contráctiles en la célula (probablemente el sistema de microfilamentos) (capítulo 50).

Hay **dos** tipos generales de endocitosis. La **fagocitosis** sólo sucede en células especializadas, como los macrófagos y los granulocitos. La fagocitosis comprende la ingestión de partículas grandes, como virus, bacterias, células o restos. Los macrófagos son en extremo activos a este respecto, y pueden ingerir 25% de su volumen por hora. Al hacerlo, un macrófago puede internalizar 3% de su membrana plasmática cada minuto, o la membrana completa cada 30 minutos.

La **pinocitosis** ("bebida celular") es una propiedad de todas las células, y da pie a la captación celular de líquido y contenido de

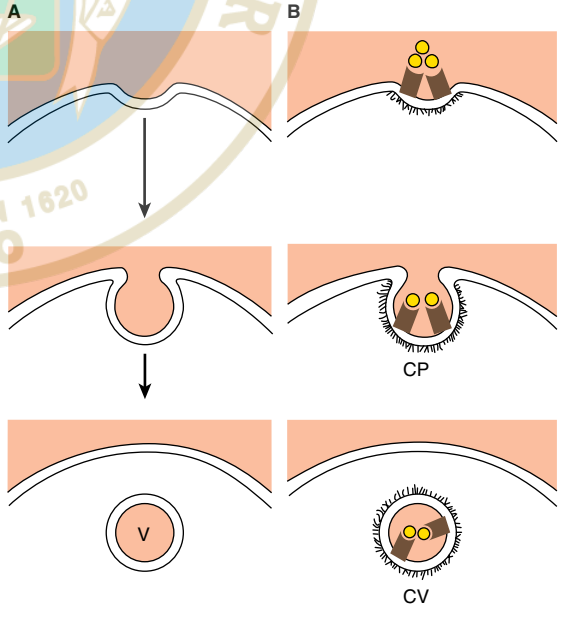


FIGURA 40-20 Dos tipos de pinocitosis. Una vesícula endocitótica (V) se forma como resultado de invaginación de una porción de la membrana plasmática. La pinocitosis de fase fluida **(A)** es al azar y no dirigida. La absortiva (endocitosis mediada por receptor) **(B)** es selectiva y ocurre en hoyuelos cubiertos (CP) revestidos con la proteína clatrina (el material con pelusilla). El establecimiento de blanco es proporcionado por receptores (símbolos de color café) específicos para diversas moléculas. Esto da lugar a la formación de una vesícula cubierta (CV) internalizada.

líquido. Hay dos tipos. La **pinocitosis de fase líquida** es un proceso no selectivo en el cual la captación de un soluto mediante la formación de vesículas pequeñas es simplemente proporcional a sus cifras en el líquido extracelular circundante. La formación de estas vesículas es un proceso en extremo activo. Los fibroblastos, por ejemplo, internalizan su membrana plasmática a alrededor de una tercera parte del índice de los macrófagos; este proceso ocurre con mayor rapidez que la formación de membranas. El área de superficie y el volumen de una célula no cambian mucho, de manera que es necesario que las membranas se reemplacen por medio de exocitosis o al reciclarse tan rápido como se eliminan mediante endocitosis.

El otro tipo de pinocitosis, la **pinocitosis absortiva** o **endocitosis mediada por receptor**, es un proceso que se encarga principalmente de la captación de macromoléculas específicas para las cuales hay un número finito de sitios de unión en la membrana plasmática. Tales receptores de alta afinidad permiten la concentración selectiva de ligandos desde el medio, minimizan la captación de líquido o de macromoléculas no unidas solubles, y aumentan de modo notorio el índice al cual moléculas específicas entran en la célula. Las vesículas formadas en el transcurso de la pinocitosis absortiva se derivan de invaginaciones (hoyuelos) cubiertas en el lado citoplásmico con un material filamentoso, y que se denominan de manera apropiada **hoyuelos cubiertos**. En muchos sistemas, la proteína **clatrina** es el material filamentoso. Tiene una estructura de tres extremos (llamada un **trisquelión**); cada extremo está hecho de una cadena ligera y una pesada de clatrina. La polimerización de la clatrina hacia una vesícula es dirigida por **partículas de montaje**, compuestas de cuatro **proteínas adaptadoras**. Éstas interactúan con ciertas secuencias de aminoácidos en los receptores que se convierten en carga, lo que asegura la selectividad de la captación. El lípido **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2)** (capítulo 21) también tiene una función importante en el montaje de vesículas. Más aún, la proteína **dinamina**, que se une al GTP y lo hidroliza, se necesita para la separación de vesículas cubiertas con clatrina desde la superficie celular. Los hoyuelos cubiertos pueden constituir hasta 2% de la superficie de algunas células. Otros aspectos de las vesículas se discuten en el capítulo 49.

Como ejemplo, la molécula de **lipoproteína de baja densidad** (LDL) y su receptor (capítulo 25) se internalizan por medio de hoyuelos cubiertos que contienen el receptor de LDL; estas vesículas endocitóticas que contienen LDL y su receptor se fusionan con lisosomas en la célula. El receptor se libera y se recicla de regreso hacia la membrana de superficie celular, pero la apoproteína de LDL se degrada y los colesteril ésteres se metabolizan. La síntesis del receptor de LDL está regulada mediante consecuencias secundarias o terciarias de pinocitosis, por ejemplo, por productos metabólicos (como el colesterol) liberados durante la degradación LDL. Los trastornos del receptor de LDL y su internalización tienen importancia médica y se comentan en los capítulos 25 y 26.

La pinocitosis absortiva de **glucoproteínas extracelulares** requiere que las glucoproteínas porten señales de reconocimiento de carbohidrato específicas. Estas señales de reconocimiento son unidas por moléculas receptoras de membrana, que tienen una función análoga a la del receptor de LDL. Un **receptor galactosil** sobre la superficie de hepatocitos es esencial en la pinocitosis absortiva de **asialoglucoproteínas** desde la circulación (capítulo 46). Las **hidrolasas ácidas** captadas por medio de pinocitosis absortiva en fibroblastos son reconocidas mediante sus porciones **manosa 6-fosfato**. Es interesante que la porción manosa 6-fosfato también parece tener importancia en la dirección intracelular de las hidrolasas ácidas hacia los lisosomas de las células en las cuales se sintetizan (capítulo 46).

Existe un lado problemático para la endocitosis mediada por receptor, por cuanto los **virus** que dan por resultado enfermedades como la hepatitis (que afecta a las células del hígado), la poliomielitis (que afecta a neuronas motoras) y el SIDA (que afecta a células T) inician su daño en las células por medio de este mecanismo. La **toxicidad por hierro** también empieza con captación excesiva debida a endocitosis.

La exocitosis libera ciertas macromoléculas desde las células

Casi todas las células liberan macromoléculas hacia el exterior mediante **exocitosis**. Asimismo, este proceso participa en el remodelado de membrana, cuando los componentes que se sintetizan en el aparato de Golgi y ER se transportan en vesículas que se funden con la membrana plasmática. La señal para la "exocitosis clásica" (véase más adelante) suele ser una hormona que, cuando se une a un receptor de superficie celular, induce un cambio local y transitorio de las cifras de Ca^{2+}. El Ca^{2+} desencadena exocitosis. En la figura **40-21** se comparan los mecanismos de exocitosis y endocitosis.

Las moléculas liberadas por medio de exocitosis tienen por lo menos tres destinos: 1) son proteínas de membrana y permanecen asociadas con la superficie celular; 2) pueden hacerse parte de la matriz extracelular, por ejemplo, colágeno y glucosaminoglucanos, o 3) pueden entrar en el líquido extracelular y emitir señales hacia otras células. La insulina, la hormona paratiroidea y las catecolaminas se empacan en gránulos y se procesan dentro de las células, para liberarse en el momento de estimulación apropiada.

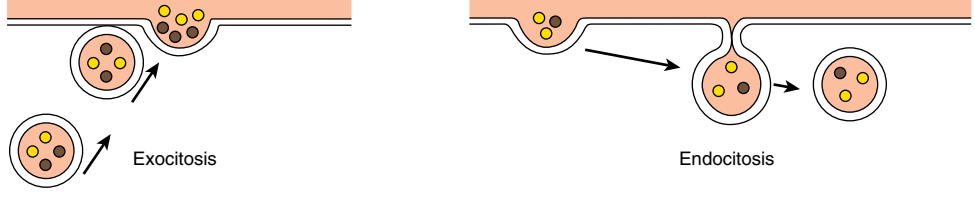


FIGURA 40-21 **Una comparación de los mecanismos de endocitosis y exocitosis.** La exocitosis comprende el contacto de dos monocapas de superficie interna (lado citoplásmico), mientras que la endocitosis se produce por el contacto de dos monocapas de superficie externa.

DIVERSAS SEÑALES PUEDEN TRANSMITIRSE A TRAVÉS DE MEMBRANAS

Señales bioquímicas específicas, como neurotransmisores, hormonas e inmunoglobulinas se unen a proteínas receptoras transmembrana integrales por medio de sus dominios extracelulares expuestos, lo que transmite información a través de las membranas hacia el citoplasma. Este proceso, llamado **señalización transmembrana** o **transducción de señal**, involucra la generación de varias moléculas señalizadoras segundos mensajeros, incluso nucleótidos cíclicos, calcio, fosfoinositidas, y diacilglicerol (capítulo 42). Muchos de los pasos involucran fosforilación de receptores y proteínas torrente abajo.

LAS UNIONES INTERCELULARES COMUNICANTES PERMITEN EL FLUJO DIRECTO DE MOLÉCULAS DESDE UNA CÉLULA HACIA OTRA

Las **uniones intercelulares** comunicantes son estructuras que permiten la transferencia directa de moléculas pequeñas (hasta ~1 200 Da) desde una célula hacia su vecina; están compuestas de una familia de proteínas llamadas **conexinas** que forman una estructura hexagonal que consta de 12 de esas proteínas. Seis conexinas forman un hemicanal de conexina y se unen a una estructura similar en una célula vecina para hacer un **canal conexón completo** (**figura 40-22**). Una unión intercelular comunicante contiene varios conexones. Diferentes conexinas se encuentran en diferentes tejidos. Se ha hallado que las mutaciones en los genes que codifican para conexinas muestran vínculo con diversas enfermedades, entre ellas anormalidades cardiovasculares, un tipo de sordera, y la forma ligada a X de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (un trastorno neurológico desmielinizante).

LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES (EXOSOMAS) REPRESENTAN UN MECANISMO NUEVO, Y PREVIAMENTE NO APRECIADO, DE COMUNICACIÓN ENTRE UNA CÉLULA Y OTRA

Durante la última década se ha identificado y caracterizado una clase de vesículas secretadas, heterogéneas, pequeñas, llamadas en general **vesículas extracelulares**. Las vesículas extracelulares han quedado implicadas como un nuevo mediador importante de la comunicación entre una célula y otra, que es probable que contribuya de manera importante tanto a la fisiología normal como a la fisiopatología. Estas vesículas, encerradas por una bicapa lipídica, son de tamaño un poco heterogéneo (30 a 2 000 nm de diámetro) y son generadas por al menos dos mecanismos (**figura 40-23**): las **microvesículas** son generadas por gemación desde la membrana plasmática de una **célula fuente**, mientras que los **exosomas** son generados desde el cuerpo multivesicular (MVB), un componente del sistema de tráfico de la membrana endocítica antes descrito (figura 40-12). Los exosomas son secretados desde la célula fuente en el momento de la fusión del

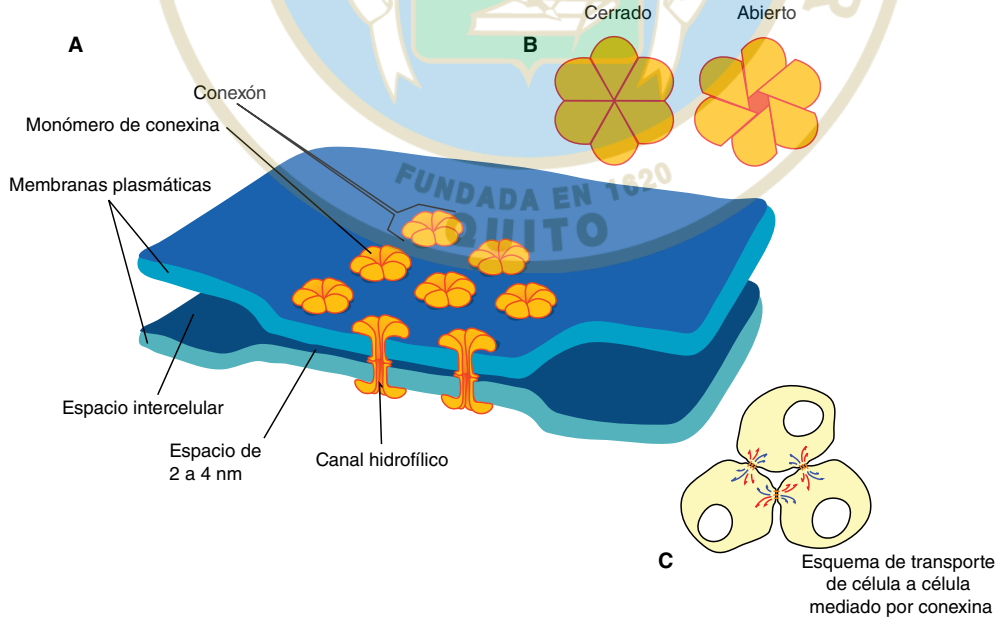


FIGURA 40-22 **Diagrama esquemático de una unión intercelular comunicante.** Se muestran esquemáticamente (**A**) las relaciones entre células que contienen conexina; (**B**) canales de conexina completos abiertos y cerrados, y (**C**) el flujo de moléculas (flechas azules, rojas) entre un grupo de tres células. Se hace un conexón a partir de dos hemiconexones. Cada hemiconexón está hecho de seis moléculas de conexina. Los solutos pequeños son capaces de difundirse a través del canal central cuando está abierto, lo que proporciona un mecanismo directo de comunicación entre una célula y otra. Nótese que las conexinas conectan células que están dentro de 2 a 4 nm una de otra. Fuente de la imagen: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b7/Gap_cell_junction-en.svg.

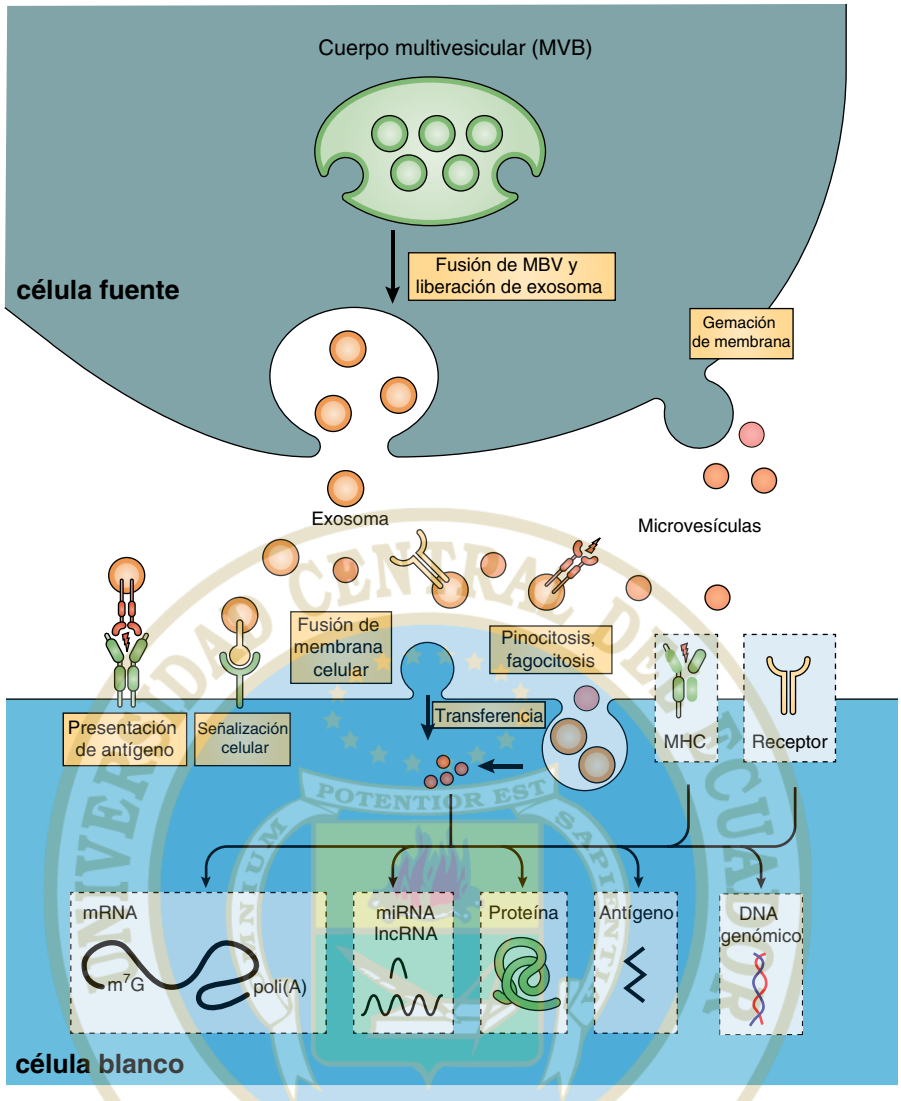


FIGURA 40-23 Comunicación de una célula a otra por medio de vesículas extracelulares. Se muestran los mecanismos propuestos para la formación y producción de exosomas y microvesículas por medio de endocitosis (exosoma) y gemación de membrana (microvesícula) desde una célula **fuente**. Las vesículas producidas en el cuerpo multivesicular (MVB) pueden pasar por exocitosis después de la fusión con la membrana plasmática como se muestra, o brotar hacia el espacio extracelular. Todos estos procesos comprenden la recolección de proteínas, lípidos y moléculas señalizadoras previamente implicadas en exocitosis y gemación (que no se muestra). Una vez liberados desde la célula fuente, los exosomas y/o microvesículas resultantes localizan su célula **blanco**, y siguiendo los tipos de interacciones entre vesícula y célula blanco mostrados, liberan su contenido (véanse las flechas negras dentro de la célula blanco). Se ha mostrado que diferentes vesículas contienen RNA (mRNA, miRNA, lncRNA; capítulo 36) y DNA, proteínas y lípidos bioactivos específicos; antígenos, y moléculas pequeñas biológicamente activas. Es importante que se ha mostrado que las vesículas extracelulares tienen efectos biológicos tanto positivos como negativos sobre células blanco en estados tanto normal como patológico.

MVB y la membrana plasmática. En ambos casos las vesículas extracelulares (exosomas y microvesículas) finalmente se fusionan a su **célula blanco** para suministrar una "carga" separada. Lamentablemente, dado el descubrimiento reciente de vesículas extracelulares, los nombres y términos exactos usados para describir estas vesículas, sus cargas, y células fuente y blanco relevantes varían. Más aún, los términos "microvesícula" y "exosoma" a menudo se unifican como simplemente "exosomas".

El contenido de la vesícula varía de una célula fuente a otra, e incluso se ha reportado que es diferente a partir de la misma célula fuente cultivada en condiciones distintas. Las cargas de las vesículas pueden incluir diversas proteínas citoplasmáticas y nucleares, proteínas unidas a membrana que varían desde canales hasta receptores, moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), proteínas que interactúan con balsa lipídica, DNA, mRNA, ncRNA grandes y pequeños, así como proteínas

pequeñas y moléculas pequeñas bioactivas (figura 40-23). Dada la rica y amplia diversidad del contenido de vesícula/exosoma, no sorprende que estas estructuras hayan quedado implicadas en un rango muy amplio de la biología. Más aún, dado su contenido de proteína de membrana y el hecho de que las vesículas extracelulares parecen dirigirse a células receptoras específicas, en las industrias farmacéutica y de biotecnología los exosomas están despertando mucho interés, y se les está prestando mucha atención, respecto a su valor potencial como sistemas de suministro terapéuticos. El trabajo futuro determinará si esta área nueva e interesante de la investigación biomédica sobre vesículas extracelulares está a la altura de esta promesa.

LAS MUTACIONES QUE AFECTAN PROTEÍNAS DE MEMBRANA CAUSAN ENFERMEDADES

En vista del hecho de que las membranas están situadas en tantos orgánulos, y participan en tantos procesos, no sorprende que las mutaciones que afectan sus constituyentes proteínicos deban dar lugar a muchas enfermedades o trastornos. Mientras que algunas mutaciones afectan de manera directa la función de las proteínas de membrana, casi todas las mutaciones causan plegado erróneo de proteína y alteran el tráfico (capítulo 49) de las proteínas de membrana desde su sitio de síntesis en el ER hacia la membrana plasmática u otros sitios intracelulares/organelos. En el **cuadro 40-7** se listan ejemplos de enfermedades o trastornos debidos a anormalidades en proteínas de membrana; éstos reflejan principalmente mutaciones en proteínas de la membrana plasmática; una afecta la función lisosomal (enfermedad de células I).

Las proteínas en membranas plasmáticas pueden clasificarse como receptores, transportadores, canales iónicos, enzimas y componentes estructurales. Los miembros de todas estas clases a menudo están glucosilados, de modo que las mutaciones que afectan este proceso (capítulo 46) pueden alterar su función. Las mutaciones en receptores pueden causar defectos de la señalización transmembrana, un suceso común en el cáncer (capítulo 56). Muchas enfermedades o trastornos genéticos se han atribuido a mutaciones que afectan diversas proteínas involucradas en el transporte de aminoácidos, azúcares, lípidos, urato, aniones, cationes, agua y vitaminas a través de la membrana plasmática.

Las mutaciones en genes que codifican para proteínas en otras membranas también pueden tener consecuencias perjudiciales. Así, por ejemplo, las mutaciones en genes que codifican para proteínas de membrana mitocondrial involucradas en la fosforilación oxidativa pueden suscitar problemas neurológicos y de otros tipos (p. ej., **neuropatía óptica hereditaria de Leber**; **LHON**, una enfermedad en la cual se reportó cierto éxito con la terapia génica).

Las proteínas de membrana también pueden quedar afectadas por enfermedades que no son mutaciones. La formación de autoanticuerpos contra el receptor de acetilcolina en el músculo esquelético produce miastenia grave. La isquemia puede afectar con rapidez la integridad de diversos canales de iones en membranas. La sobreexpresión de glucoproteína P (MDR-1), una bomba de fármacos, da por resultado resistencia a múltiples fármacos (MDR) en células cancerosas. Las anormalidades de constituyentes de membrana que no son proteínas también pueden ser perjudiciales. En lo que se refiere a los lípidos, el exceso de colesterol (p. ej., en la hipercolesterolemia familiar), de lisofosfolípido (p. ej., después de mordeduras por ciertas serpientes, cuyo veneno contiene fosfolipasas), o de glucoesfingolípidos (p. ej., en una esfingolipidosis), puede afectar la función de membrana.

La fibrosis quística (CF) se debe a mutaciones en el gen que codifica para CFTR, un transportador de cloruro

La **CF** es un trastorno genético recesivo prevaleciente entre sujetos de raza blanca en la parte no latina de América, y en ciertas zonas del norte de Europa. Se caracteriza por infecciones bacterianas crónicas de las vías respiratorias y los senos paranasales, digestión inadecuada de grasa debida a insuficiencia exocrina pancreática, esterilidad en varones debida a desarrollo anormal del conducto deferente, y concentraciones altas de cloruro en el sudor (> 60 mmol/L). Ahora se conoce que las mutaciones en un gen que codifica para una proteína denominada **proteína reguladora transmembrana de fibrosis quística (CFTR)** eran la causa de la CF. La CFTR es un transportador de Cl^- regulado por AMP cíclico. En el capítulo 57, caso 5, se presentan las principales características clínicas de la CF, e información adicional en cuanto al gen del cual depende la CF, y acerca de la CFTR.

CUADRO 40-7 Algunas enfermedades o estados patológicos originados por, o atribuidos a, anormalidades de membranas[a]

Enfermedad	Anormalidad
Acondroplasia (OMIM 100800)	Mutaciones en el gen que codifica para el receptor de factor de crecimiento de fibroblasto 3
Hipercolesterolemia familiar (OMIM 143890)	Mutaciones en el gen que codifica para el receptor de LDL
Fibrosis quística (OMIM 219700)	Mutaciones en el gen que codifica para la proteína CFTR, un transportador de Cl^-
Síndrome de QT largo congénito (OMIM 192500)	Mutaciones de genes que codifican para canales de ion en el corazón
Enfermedad de Wilson (OMIM 277900)	Mutaciones en el gen que codifica para una ATPasa dependiente de cobre
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	Mutaciones en el gen que codifica para GlcNAc fosfotransferasa, que dan por resultado falta de la señal Man 6-P para la ubicación lisosómica de ciertas hidrolasas
Esferocitosis hereditaria (OMIM 182900)	Mutaciones en los genes que codifican para espectrina u otras proteínas estructurales en la membrana de eritrocitos
Metástasis de células cancerosas	Se cree que las anormalidades en las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas y glucolípidos de membrana son de importancia
Hemoglobinuria paroxística nocturna (OMIM 311770)	Mutación que da por resultado fijación deficiente del ancla GPI (capítulo 46) a ciertas proteínas de la membrana del eritrocito

[a] Los trastornos listados se comentan más en otros capítulos. En el cuadro se listan ejemplos de mutaciones que afectan dos receptores, un transportador, varios canales de ion (esto es, síndrome de QT largo congénito), dos enzimas, y una proteína estructural. También se presentan ejemplos de glucosilación alterada o defectuosa de glucoproteínas. Casi todas las enfermedades listadas afectan la membrana plasmática.

RESUMEN

- Las membranas son estructuras complejas compuestas de moléculas que contienen lípidos, proteínas y carbohidrato.
- La estructura básica de todas las membranas es la bicapa lipídica. Esta bicapa está formada de dos hojas de fosfolípidos en las cuales los grupos de la cabeza polar hidrofílica se dirigen en dirección contraria uno del otro, y se exponen al ambiente acuoso en las superficies externa e interna de la membrana. Las colas no polares hidrofóbicas de estas moléculas están orientadas una hacia otra, hacia el centro de la membrana.
- Las membranas son estructuras dinámicas. Los lípidos y ciertas proteínas muestran difusión lateral rápida. El *"flip-flop"* es muy lento para lípidos, e inexistente para proteínas.
- El modelo del mosaico fluido forma una base útil para pensar respecto a la estructura de la membrana.
- Las proteínas de membrana se clasifican como integrales si están firmemente embebidas en la bicapa, y como periféricas si están fijas a la superficie externa o interna.
- Las aproximadamente 20 membranas en una célula de mamífero tienen diferentes composiciones y funciones y definen compartimientos esenciales, o ambientes especializados, dentro de la célula, que tienen funciones específicas (p. ej., lisosomas).
- Ciertas moléculas hidrofóbicas se difunden libremente a través de las membranas, pero el movimiento de otras está restringido debido a su tamaño o carga.
- Diversos mecanismos pasivos y activos (por lo general dependientes de ATP) se emplean para mantener gradientes de esas moléculas a través de diferentes membranas.
- Ciertos solutos, por ejemplo, glucosa, entran a las células mediante difusión facilitada a lo largo de un gradiente descendente desde concentración alta hacia baja usando proteínas acarreadoras específicas (transportadores).
- Las principales bombas impulsadas por ATP se clasifican como transportadores P (fosforilados), F (factores de energía), V (vacuolar) y ABC. Los miembros de estas clases son la Na^+-K^+-ATPasa, la Ca^{2+}ATPasa del retículo sarcoplásmico, la mt ATP sintasa, los lisosomas acidificadores de ATPasa, la proteína CFTR, y la proteína MDR-1.
- Los canales de iones activados por ligando o voltaje suelen usarse para mover moléculas cargadas (Na^+, K^+, Ca^{2+}, etc.) a través de membranas bajo sus gradientes electroquímicos.
- Las moléculas grandes pueden entrar o salir de las células por medio de mecanismos como endocitosis o exocitosis. Estos procesos a menudo necesitan unión de la molécula a un receptor, lo que proporciona especificidad al proceso.
- Las vesículas extracelulares (exosomas) permiten el movimiento directo de macromoléculas de una célula a otra por medio de vesículas pequeñas. Las cargas de exosomas pueden incluir lípidos, proteínas (receptores, canales, proteínas señalizadoras) DNA, RNA, y moléculas bioactivas pequeñas. Esta nueva área del tráfico de membrana y de la comunicación entre una célula y otra tiene tremendo potencial para tener repercusiones sobre el pensamiento y la práctica acerca de la biología normal y las anormalidades biológicas.
- Las mutaciones que afectan la estructura de proteínas de membrana (receptores, transportadores, canales de ion, enzimas y proteínas estructurales) pueden traducirse en enfermedades; los ejemplos son fibrosis quística e hipercolesterolemia familiar.

REFERENCIAS

Alberts B, Johnson A, Lewis J, *et al*: *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed. Garland Science, 2008.

Cooper GM, Hausman RE: *The Cell, A Molecular Approach*. Sinauer Assoc Inc., 2013.

Doherty GJ, McMahon HT: Mechanisms of endocytosis. Annu Rev Biochem 2009;78:857.

Lodish H, Berk A, Kaiser CA, *et al*: *Molecular Cell Biology*, 7th ed. WH Freeman & Co, 2012.

Longo N: Inherited defects of membrane transport. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. Fauci AS, *et al* (editors). Chapter 359. McGraw-Hill, 2008.

Pollard TD, Earnshaw WC: *Cell Biology*, 2nd ed. Saunders Elsevier, 2008.

Raposo G, Stoorvogel W: Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. J Cell Biol 2013;200:373-383.

Singer SJ: Some early history of membrane molecular biology. Annu Rev Physiol 2004;66:1.

Vance DE, Vance J (editors): *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Elsevier, 2008.

Voelker DR: Genetic and biochemical analysis of non-vesicular lipid traffic. Annu Rev Biochem 2009;78:827.

CAPÍTULO

41

La diversidad del sistema endocrino

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar los principios básicos de la acción de hormonas endocrinas, incluso los determinantes de la respuesta de células blanco de hormonas, y los determinantes de la concentración de hormona en células blanco.
- Entender la amplia diversidad y los mecanismos de acción de las hormonas endocrinas.
- Apreciar los pasos complejos involucrados en la producción, el transporte y el almacenamiento de hormonas.

ACTH	hormona adrenocorticotrópica
ANF	factor natriurético auricular
cAMP	monofosfato de adenosina cíclico
CBG	globulina de unión a corticosteroide
CG	gonadotropina coriónica
cGMP	monofosfato de guanosina cíclico
CLIP	péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina
DBH	dopamina β-hidroxilasa
DHEA	dehidroepiandrosterona
DHT	dihidrotestosterona
DIT	diyodotirosina
DOC	desoxicorticosterona
EGF	factor de crecimiento epidérmico
FSH	hormona estimulante del folículo
GH	hormona de crecimiento
IGF-1	factor de crecimiento parecido a la insulina-1
LH	hormona luteotrópica
LPH	lipotropina
MIT	monoyodotirosina
MSH	hormona estimulante de melanocitos
OHSD	hidroxiesteroide deshidrogenasa
PNMT	feniletanolamina-*N*-metiltransferasa
POMC	pro-opiomelanocortina
SHBG	globulina de unión a hormona sexual
StAR	(proteína) reguladora aguda esteroidogénica
TBG	globulina de unión a tiroxina
TEBG	globulina de unión a testosterona-estrógeno
TRH	hormona liberadora de tirotropina
TSH	hormona estimulante de la tiroides

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La supervivencia de los organismos multicelulares depende de su capacidad para adaptarse a un ambiente en cambio constante. Los mecanismos de comunicación intercelular son necesarios para esta adaptación. Los sistemas nervioso y endocrino proporcionan esta comunicación intercelular en el organismo. En un inicio se consideró que el sistema nervioso proporcionaba un sistema de comunicación fijo, mientras que el endocrino proveía hormonas, que son mensajes móviles; en realidad, hay una notoria convergencia de estos sistemas reguladores. Por ejemplo, la regulación neural del sistema endocrino es importante en la producción y secreción de algunas hormonas; muchos neurotransmisores semejan hormonas en su síntesis, transporte y mecanismo de acción, y muchas hormonas se sintetizan en el sistema nervioso. La palabra "hormona" se deriva de un término griego que significa "despertar a la actividad"; como se define clásicamente, una hormona es una sustancia que se sintetiza en un órgano y el sistema circulatorio la transporta para que actúe sobre otro tejido. Sin embargo, esta descripción original es demasiado restrictiva porque las hormonas pueden actuar sobre células adyacentes (acción paracrina) y sobre la célula en la cual se sintetizaron (acción autocrina) sin entrar en la circulación sistémica. Una diversa gama de hormonas (cada una con mecanismos de acción y propiedades de biosíntesis, almacenamiento, secreción, transporte y metabolismo distintivos) ha evolucionado para proporcionar respuestas homeostáticas. Esta diversidad bioquímica es el tema de este capítulo.

CONCEPTO DE CÉLULA BLANCO

Hay alrededor de 200 tipos de células diferenciadas en los humanos. Sólo algunas producen hormonas, pero la mayor parte de los 75 billones de células en una persona son blancos para una o más de las más de 50 hormonas conocidas. El concepto de la célula blanco es un modo útil de analizar la acción hormonal. Se creía que las hormonas afectaban a un solo tipo de célula (o tan sólo a algunos tipos de células) y que una hormona desencadenaba una acción bioquímica o fisiológica singular. Ahora se sabe

CUADRO 41-1 Determinantes de la concentración de una hormona en la célula blanco

El índice de síntesis y secreción de las hormonas
La proximidad de la célula blanco a la fuente de hormona (efecto de dilución)
La afinidad (constante de disociación; K_d) de la hormona con proteínas de transporte plasmáticas específicas (si las hay)
La conversión de formas inactivas o con actividad menos que óptima de la hormona hacia la forma por completo activa
El índice de depuración desde el plasma por otros tejidos o por digestión, metabolismo o excreción

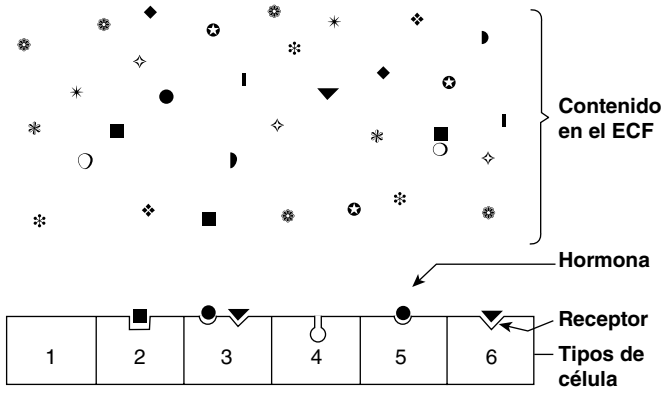


FIGURA 41-1 Especificidad y selectividad de receptores de hormona. Muchas moléculas diferentes circulan en el líquido extracelular (ECF), pero sólo algunas son reconocidas por receptores de hormona. Los receptores deben seleccionar estas moléculas de entre concentraciones altas de las otras moléculas. Este dibujo simplificado muestra que una célula puede carecer de receptores de hormona (célula tipo 1), tener un receptor (células tipos 2+5+6), tener receptores para varias hormonas (célula tipo 3), o tener un receptor pero carecer de hormona en la vecindad (célula tipo 4).

que una hormona dada puede afectar diferentes tipos de células, que más de una hormona es capaz de afectar a un tipo dado de célula, y que las hormonas pueden ejercer muchos efectos distintos en una célula o en diferentes células. Con el descubrimiento de receptores hormonales de superficie celular e intracelulares específicos, la definición de un blanco se ha expandido para incluir cualquier célula en la cual la hormona (ligando) se une a su receptor, se haya determinado o no una respuesta bioquímica o fisiológica.

Varios factores determinan la respuesta de una célula blanco a una hormona, mismos que se consideran de una de dos maneras generales: 1) como factores que afectan la concentración de la hormona en la célula blanco (**cuadro 41-1**) y 2) como factores que afectan la respuesta real de la célula blanco a la hormona (**cuadro 41-2**).

LOS RECEPTORES HORMONALES TIENEN IMPORTANCIA FUNDAMENTAL

Los receptores discriminan con precisión

La **figura 41-1** ilustra uno de los principales desafíos que se enfrentan para hacer que funcione el sistema de comunicación basado en hormonas. Las hormonas están presentes a cifras muy bajas en el líquido extracelular, por lo general en el rango atomolar a nanomolar (10^{-15} a 10^{-9} mol/L). Esta concentración es mucho menor que la de las muchas moléculas que tienen estructura similar (esteroles, aminoácidos, péptidos y proteínas) y otras moléculas que circulan a concentraciones dentro del rango micromolar a milimolar (10^{-6} a 10^{-3}) mol/L. En consecuencia, las células blanco deben distinguir no sólo entre diferentes hormonas presentes en pequeñas cantidades, sino también entre una hormona dada y el exceso de 10^6 a 10^9 veces de otras moléculas similares; este alto grado de discriminación es proporcionado por moléculas de reconocimiento asociadas a células denominadas receptores. Las hormonas inician sus efectos biológicos al unirse a receptores específicos, y dado que cualquier sistema de control eficaz también debe proporcionar un medio de suspender una respuesta, las acciones inducidas por hormonas a menudo terminan cuando el efector se disocia del receptor (figura 38-1; respuesta tipo A).

Una célula blanco se define por su capacidad para unir de modo selectivo una hormona dada a su receptor cognado. Varias características bioquímicas de esta interacción tienen importancia para que las interacciones entre hormona y receptor sean significativas desde el punto de vista fisiológico: 1) la unión debe ser específica, es decir, desplazable por agonista o antagonista; 2) la unión debe ser saturable, y 3) la unión debe ocurrir dentro del rango de concentración de la respuesta biológica esperada.

CUADRO 41-2 Determinantes de la respuesta de la célula blanco

El número, la actividad relativa, y el estado de ocupación de los receptores específicos sobre la membrana plasmática o en el citoplasma o el núcleo
El metabolismo (activación o desactivación) de la hormona en la célula blanco
La presencia de otros factores dentro de la célula necesarios para la respuesta de la hormona
Una regulación ascendente o descendente del receptor consiguiente a la interacción con el ligando
Desensibilización de la célula después de receptor, incluso regulación descendente del receptor

Los receptores tienen dominios tanto de reconocimiento como de acoplamiento

Todos los receptores tienen al menos dos dominios funcionales. Un dominio de reconocimiento se une al ligando hormonal, y una segunda región genera una señal que acopla el reconocimiento hormonal a alguna función intracelular. El acoplamiento (transducción de señal) sucede de dos maneras generales. Las hormonas polipeptídicas y proteínicas y las catecolaminas se unen a receptores localizados en la membrana plasmática y, así, generan una señal que regula diversas funciones intracelulares, a menudo al cambiar la actividad de una enzima. En contraste, las hormonas esteroides, retinoides y tiroideas interactúan con

receptores intracelulares, y es este complejo de ligando-receptor lo que proporciona de modo directo la señal, por lo general hacia genes específicos cuyo índice de transcripción queda afectado por ello.

En los receptores de hormona polipéptido proteína y catecolamina se han identificado los dominios que se encargan del reconocimiento de hormona y de la generación de señal. Los receptores de hormona esteroide, tiroidea y retinoide tienen varios dominios funcionales: un sitio se une a la hormona; otro se une a regiones de DNA específicas; un tercero participa en la interacción con otras proteínas correguladoras que dan por resultado la activación (o represión) de la transcripción de gen, y un cuarto puede especificar unión a una o más otras proteínas que influyen sobre el tráfico intracelular del receptor (figura 38-19)

Las funciones dobles de unión y acoplamiento finalmente definen un receptor, y es el acoplamiento de la unión a hormona a transducción de señal (el llamado **acoplamiento receptor-efector**) lo que proporciona el primer paso en la amplificación de la respuesta hormonal. Asimismo, este propósito doble distingue entre el receptor de célula blanco y las proteínas acarreadoras plasmáticas que se unen a la hormona pero que no generan una señal (cuadro 41-6).

Los receptores son proteínas

Han sido identificadas varias clases de receptores de hormonas peptídicas; por ejemplo, el receptor de insulina es un heterotetrámero compuesto de dos copias de dos subunidades proteínicas diferentes ($\alpha_2\beta_2$) unidas por múltiples enlaces disulfuro en los cuales la subunidad α extracelular se une a la insulina, y la subunidad β que abarca la membrana transduce la señal por medio del dominio de tirosina proteína cinasa localizado en la parte citoplásmica de este polipéptido. Los receptores para el factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (IGF-1) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) por lo general tienen estructura similar a la del receptor de insulina. Los receptores de hormona de crecimiento (GH) y prolactina también abarcan la membrana plasmática de células blanco pero no contienen actividad de proteína cinasa intrínseca. Empero, la unión de ligando a estos receptores origina la asociación y activación de una vía de emisión de señales proteína cinasa por completo diferente, la vía de Jak-Stat. Los receptores de hormona polipeptídica y catecolamina, que transducen señales al alterar el índice de producción de cAMP mediante proteínas G, se caracterizan por la presencia de siete dominios que abarcan la membrana plasmática. La activación de la proteína cinasa y la generación de AMP cíclico (cAMP, ácido 3′5′-adenílico; figura 18-5) es una acción torrente abajo de esta clase de receptor (el capítulo 42 presenta detalles adicionales).

Una comparación de varios receptores de esteroide diferentes con los receptores de hormona tiroidea reveló una notoria conservación de la secuencia de aminoácidos en ciertas regiones, especialmente en los dominios de unión a DNA. Esto condujo a percatarse de que los receptores del tipo esteroide o tiroideos son miembros de una superfamilia grande de receptores nucleares. Muchos miembros relacionados de esta familia en la actualidad no tienen ligando conocido y, de esta manera, se denominan receptores huérfanos. La superfamilia de receptores nucleares tiene una función crucial en la regulación de la transcripción de gen por hormonas (capítulo 42).

LAS HORMONAS PUEDEN CLASIFICARSE DE VARIOS MODOS

Las hormonas pueden clasificarse de acuerdo con la composición química, las propiedades de solubilidad, la localización de receptores, y la naturaleza de la señal usada para mediar acción hormonal dentro de la célula. El **cuadro 41-3** ilustra una clasificación basada en las dos últimas propiedades, y el **cuadro 41-4** expone las características generales de cada grupo.

Las hormonas en el grupo I son lipofílicas. Después de la secreción, estas hormonas se asocian con proteínas de transporte en el plasma o acarreadoras, proceso que sortea el problema de solubilidad mientras que prolonga la vida media plasmática de la hormona. Los porcentajes relativos de hormona unida y libre están determinados por la cantidad, la afinidad de unión y la capacidad de unión de la proteína de transporte. La hormona libre, que es la forma que tiene actividad biológica, cruza con facilidad la membrana plasmática lipofílica de todas las células, y encuentra receptores en el citosol o en el núcleo de células blanco. El complejo de ligando-receptor se supone que es el mensajero intracelular en este grupo.

El segundo grupo importante consta de hormonas hidrosolubles que se unen a receptores específicos que abarcan la membrana plasmática de la célula blanco. Las hormonas que se unen a estos receptores de superficie de células se comunican con procesos metabólicos intracelulares por medio de moléculas intermediarias llamadas **segundos mensajeros** (la hormona en sí es el primer mensajero), que se generan como consecuencia de la interacción entre ligando y receptor. El concepto de segundo mensajero surgió a partir de una observación de que la adrenalina se une a la membrana plasmática de ciertas células y aumenta el cAMP intracelular. Esto fue seguido por una serie de experimentos en los cuales se encontró que el cAMP media los efectos de muchas hormonas. Las hormonas que emplean claramente este mecanismo se muestran en el grupo II.A del cuadro 41-3. El factor natriurético auricular (ANF) usa cGMP como su segundo mensajero (grupo II.B). Varias hormonas, muchas de las cuales en el pasado se creía que afectaban el cAMP, parecen usar calcio iónico (Ca^{2+}) o metabolitos de fosfoinositidas complejas (o ambos) como la señal del segundo mensajero intracelular; éstas se muestran en el grupo II.C del cuadro. El mensajero intracelular para el grupo II.D son cascadas de proteína cinasa-fosfatasa; se han identificado varias y una hormona dada puede usar más de una cascada de cinasa. Algunas hormonas caen dentro de más de una categoría, y las asignaciones cambian a medida que se descubre nueva información.

DIVERSIDAD DEL SISTEMA ENDOCRINO

Las hormonas se sintetizan en diversos arreglos celulares

Las hormonas se sintetizan en órganos separados designados sólo para este propósito específico, como la tiroides (triyodotironina), las suprarrenales (glucocorticoides y mineralocorticoides), y la hipófisis (TSH, FSH, LH, GH, prolactina, ACTH). Algunos órganos están diseñados para desempeñar dos funciones distintas pero estrechamente relacionadas. Por ejemplo, los ovarios

CUADRO 41-3 Clasificación de las hormonas por mecanismo de acción

I. Hormonas que se unen a receptores intracelulares
- Andrógenos
- Calcitriol (1,25[OH]$_2$-D$_3$)
- Estrógenos
- Glucocorticoides
- Mineralocorticoides
- Progestinas
- Ácido retinoico
- Hormonas tiroideas (T$_3$ y T$_4$)

II. ***Hormonas que se unen a receptores de superficie celular***

A. El segundo mensajero es cAMP
- Catecolaminas α_2-adrenérgicas
- Catecolaminas β-adrenérgicas
- Hormona adrenocorticotrópica (ACTH)
- Hormona antidiurética (vasopresina)
- Calcitonina
- Gonadotropina coriónica humana (CG)
- Hormona liberadora de corticotropina
- Hormona estimulante del folículo (FSH)
- Glucagón
- Lipotropina (LPH)
- Hormona luteinizante (LH)
- Hormona estimulante de melanocitos (MSH)
- Hormona paratiroidea (PTH)
- Somatostatina
- Hormona estimulante de la tiroides (TSH)

B. El segundo mensajero es cGMP
- Factor natriurético auricular
- Óxido nítrico

C. El segundo mensajero es calcio o fosfatidilinositoles (o ambos)
- Acetilcolina (muscarínica)
- Catecolaminas α_1-adrenérgicas
- Angiotensina II
- Hormona antidiurética (vasopresina)
- Colecistocinina
- Gastrina
- Hormona liberadora de gonadotropina
- Oxitocina
- Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)
- Sustancia P
- Hormona liberadora de tirotropina (TRH)

D. El segundo mensajero es una cascada de cinasa o fosfatasa
- Adiponectina
- Somatomamotropina coriónica
- Factor de crecimiento epidérmico
- Eritropoyetina
- Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)
- Hormona de crecimiento (GH)
- Insulina
- Factores de crecimiento parecidos a la insulina 1 y 2
- Leptina
- Factor de crecimiento de nervios (NGF)
- Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
- Prolactina

producen oocitos maduros y las hormonas de la reproducción estradiol y progesterona. Los testículos producen espermatozoides maduros y testosterona. Las hormonas también se producen en células especializadas dentro de otros órganos, como el intestino delgado (péptido parecido a glucagón), la tiroides (calcitonina) y los riñones (angiotensina II). Finalmente, la síntesis de algunas hormonas requiere las células parenquimatosas de más de un órgano; por ejemplo, la piel, el hígado y los riñones

CUADRO 41-4 Características generales de las clases de hormona

	Grupo I	Grupo II
Tipos	Esteroides, yodotironinas, calcitriol, retinoides	Polipéptidos, proteínas, glucoproteínas, catecolaminas
Solubilidad	Lipofílico	Hidrofílicos
Proteínas de transporte	Sí	No
Vida media en el plasma	Prolongada (horas a días)	Breve (minutos)
Receptor	Intracelular	Membrana plasmática
Mediador	Complejo de receptor-hormona	cAMP, cGMP, Ca^{2+}, metabolitos de fosfoinositoles complejos, cascadas de cinasa

se necesitan para la producción de 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (calcitriol). A continuación se comentan los ejemplos de esta diversidad en el método para la síntesis de hormona, cada uno de los cuales ha evolucionado para satisfacer un propósito específico.

Las hormonas son diversas en el aspecto químico

Las hormonas se sintetizan a partir de una amplia variedad de bloques de construcción químicos. Una serie grande se deriva del colesterol; éstas incluyen los glucocorticoides, mineralocorticoides, estrógenos, progestinas y 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (**figura 41-2**). En algunos casos, una hormona esteroide es la molécula precursora para otra hormona. Por ejemplo, la progesterona es una hormona por derecho propio, pero también es un precursor en la formación de glucocorticoides, mineralocorticoides, testosterona y estrógenos. La testosterona es un intermediario obligatorio en la biosíntesis de estradiol y en la formación de dihidrotestosterona (DHT). En estos ejemplos, que se describen con detalle más adelante, el producto final está determinado por el tipo de célula y por el juego de enzimas asociado en el cual existe el precursor.

El aminoácido tirosina es el punto de inicio en la síntesis de las catecolaminas y de las hormonas tiroideas tetrayodotironina (tiroxina; T$_4$) y triyodotironina (T$_3$) (figura 41-2). La T$_3$ y T$_4$ son singulares por cuanto requieren la adición de yodo (como I^-) para tener bioactividad. Puesto que el yodo en la dieta es muy escaso en muchas partes del mundo, se ha adquirido por evolución un mecanismo intrincado para acumular y retener I^-.

Muchas hormonas son polipéptidos o glucoproteínas, las cuales varían de tamaño desde la pequeña hormona liberadora de tirotropina (TRH), un tripéptido, hasta polipéptidos de cadena única como la hormona adrenocorticotrópica (ACTH; 39 aminoácidos), hormona paratiroidea (PTH; 84 aminoácidos) y GH (191 aminoácidos) (figura 41-2). La insulina es un heterodímero de cadena AB de 21 y 30 aminoácidos, respectivamente. La hormona estimulante del folículo (FSH), hormona luteinizante (LH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y gonadotropina coriónica (CG) son hormonas glucoproteínicas de estructura heterodimérica αβ. La cadena α es idéntica en todas estas hormonas, y

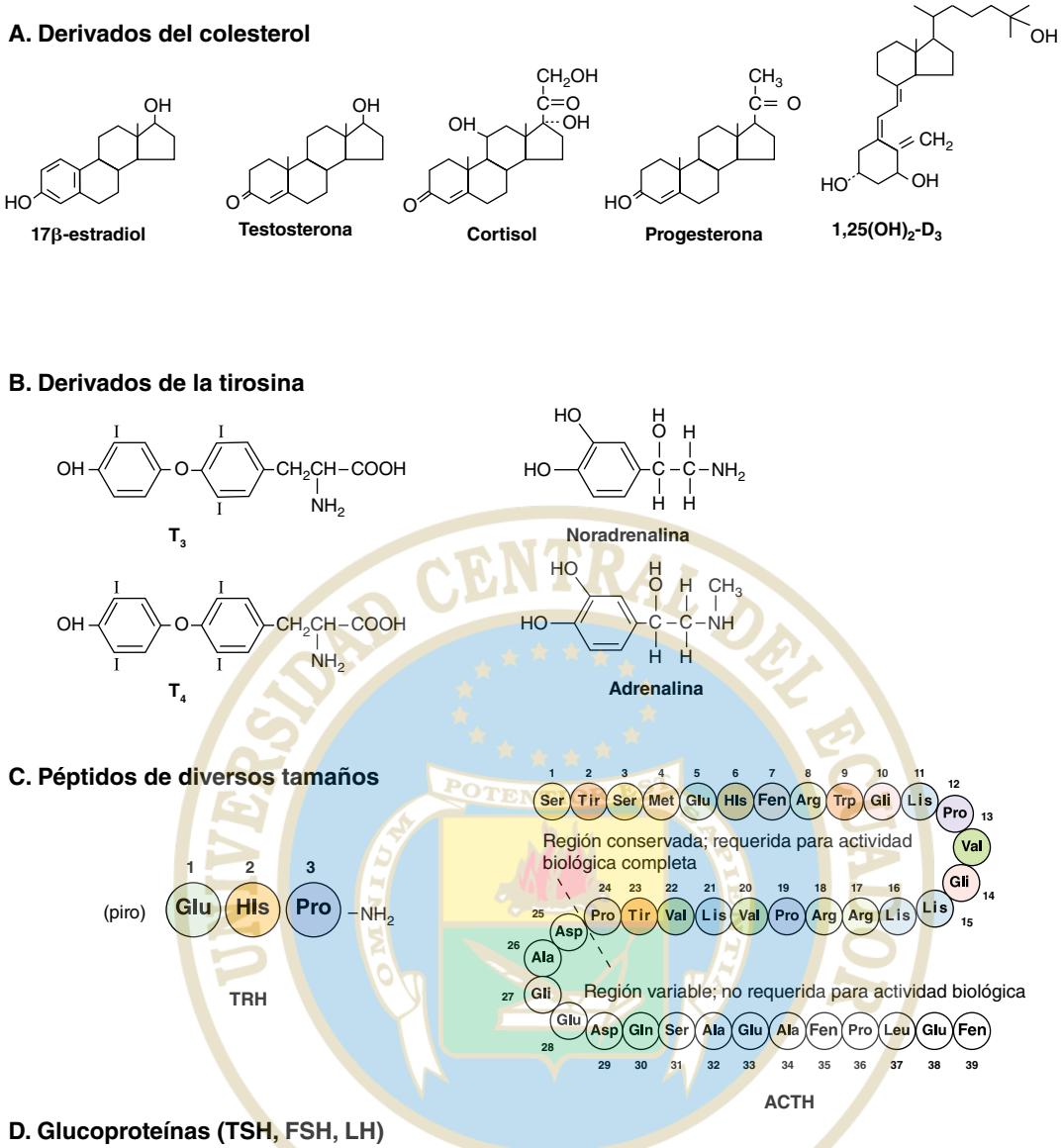


FIGURA 41-2 Diversidad química de las hormonas. (**A**) derivados de colesterol; (**B**) derivados de tirosina; (**C**) péptidos de diversos tamaños; nota: el ácido piroglutámico (piro) es una variante ciclizada del ácido glutámico en la cual el carboxilo de cadena lateral y grupos amino libres se ciclizan para formar un lactam. (**D**) glucoproteínas (TSH, FSH y LH) con subunidades α comunes y subunidades β únicas.

las cadenas β distintas imparten la singularidad hormonal. Estas hormonas tienen una masa molecular dentro del rango de 25 a 30 kDa dependiendo del grado de glucosilación y de la longitud de la cadena β.

Las hormonas se sintetizan y modifican de diversas maneras para tener actividad completa

Algunas hormonas se sintetizan en forma final y se secretan de inmediato; esta clase comprende las hormonas derivadas del colesterol. Algunas, como las catecolaminas, se sintetizan en forma final y se almacenan en las células productoras. Otras, como la insulina, se sintetizan a partir de moléculas precursoras en la célula productora, y luego se procesan y secretan en presencia de un indicio fisiológico (cifras de glucosa en plasma). Por último, aún otras se convierten en formas activas a partir de moléculas precursoras en la periferia (T_3 y DHT). Todos estos ejemplos se comentan con mayor detalle a continuación.

MUCHAS HORMONAS SE SINTETIZAN A PARTIR DEL COLESTEROL

Esteroidogénesis suprarrenal

Las hormonas esteroides suprarrenales se sintetizan a partir del colesterol, el cual se deriva en su mayor parte del plasma, pero una pequeña porción se sintetiza *in situ* a partir de la acetil-CoA mediante mevalonato y escualeno. Gran parte del colesterol en

las suprarrenales se esterifica y almacena en gotitas de lípido citoplásmicas. En el momento de estimulación de las suprarrenales por la ACTH, se activa una esterasa, y el colesterol libre que se forma se transporta hacia la mitocondria, donde una **enzima de división de cadena lateral citocromo P450 (P450scc)** convierte el colesterol en pregnenolona. La división de la cadena lateral comprende hidroxilaciones secuenciales, primero en C_{22} y después en C_{20}, seguidas por la división de cadena lateral (eliminación del fragmento de seis carbonos isocaproaldehído) para dar el esteroide de 21 carbonos (**figura 41-3**, arriba). Una **proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR)** dependiente de ACTH es esencial para el transporte de colesterol hacia la P450scc en la membrana mitocondrial interna.

Todas las hormonas esteroides de mamífero se forman a partir de colesterol por medio de la pregnenolona mediante una serie de reacciones que ocurren en las mitocondrias o en el retículo endoplásmico de la célula productora. Las hidroxilasas que necesitan oxígeno molecular y NADPH son esenciales, y las deshidrogenasas, una isomerasa, y una reacción de liasa, también son necesarias para ciertos tipos. Hay especificidad celular en la esteroidogénesis suprarrenal; por ejemplo, la 18-hidroxilasa y la 19-hidroxiesteroide deshidrogenasa, que se requieren para la síntesis de aldosterona, sólo se encuentran en las células de la zona glomerulosa (la región externa de la corteza suprarrenal), de modo que la biosíntesis de este mineralocorticoide se confina a esta región. La **figura 41-4** muestra una representación esquemática de las vías involucradas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales. Las enzimas se muestran en los cuadros rectangulares y las modificaciones en cada paso están sombreadas.

Síntesis de mineralocorticoide

La síntesis de aldosterona sigue la vía de mineralocorticoide y sucede en la zona glomerulosa. La pregnenolona se convierte en progesterona por medio de la acción de dos enzimas del retículo endoplásmico liso, la **3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-OHSD)** y **$\Delta^{5,4}$-isomerasa**. La progesterona se hidroxila en la posición C_{21} para formar 11-desoxicorticosterona (DOC), que es un mineralocorticoide activo (que retiene Na^+). La siguiente hidroxilación, en C_{11}, produce corticosterona, que tiene actividad de glucocorticoide y es un mineralocorticoide débil (tiene menos de 5% de la potencia de la aldosterona). En algunas especies (p. ej., roedores) es el glucocorticoide más potente. La hidroxilación de C_{21} se necesita para la actividad tanto de mineralocorticoide como de glucocorticoide, pero casi todos los esteroides con un grupo hidroxilo C_{17} tienen más acción glucocorticoide y menos acción mineralocorticoide. En la zona glomerulosa, que carece de la enzima 17α-hidroxilasa del retículo endoplásmico liso, hay una 18-hidroxilasa mitocondrial. La **18-hidroxilasa (aldosterona sintasa)** actúa sobre la corticosterona para formar 18-hidroxicorticosterona, que se cambia a aldosterona mediante conversión del alcohol 18 en un aldehído. Esta distribución singular de enzimas, y la regulación especial de la zona glomerulosa por K^+ y angiotensina II, han llevado a algunos investigadores a sugerir que, además de que las suprarrenales son dos glándulas, la corteza suprarrenal de hecho son dos órganos separados.

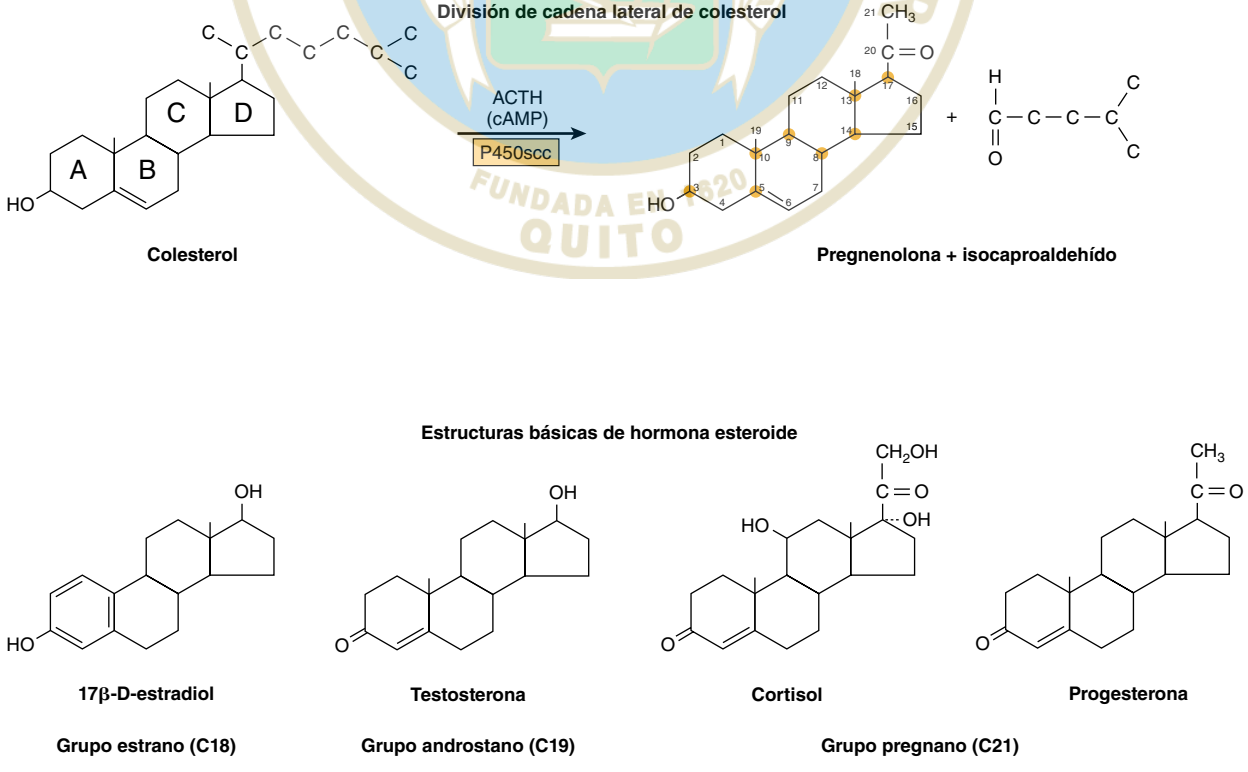


FIGURA 41-3 División de cadena lateral de colesterol y estructuras de hormona esteroide básicas. Los anillos esterol básicos se identifican mediante las letras A-D. Los átomos de carbono se numeran del 1 al 21, empezando en el anillo A (figura 26-3).

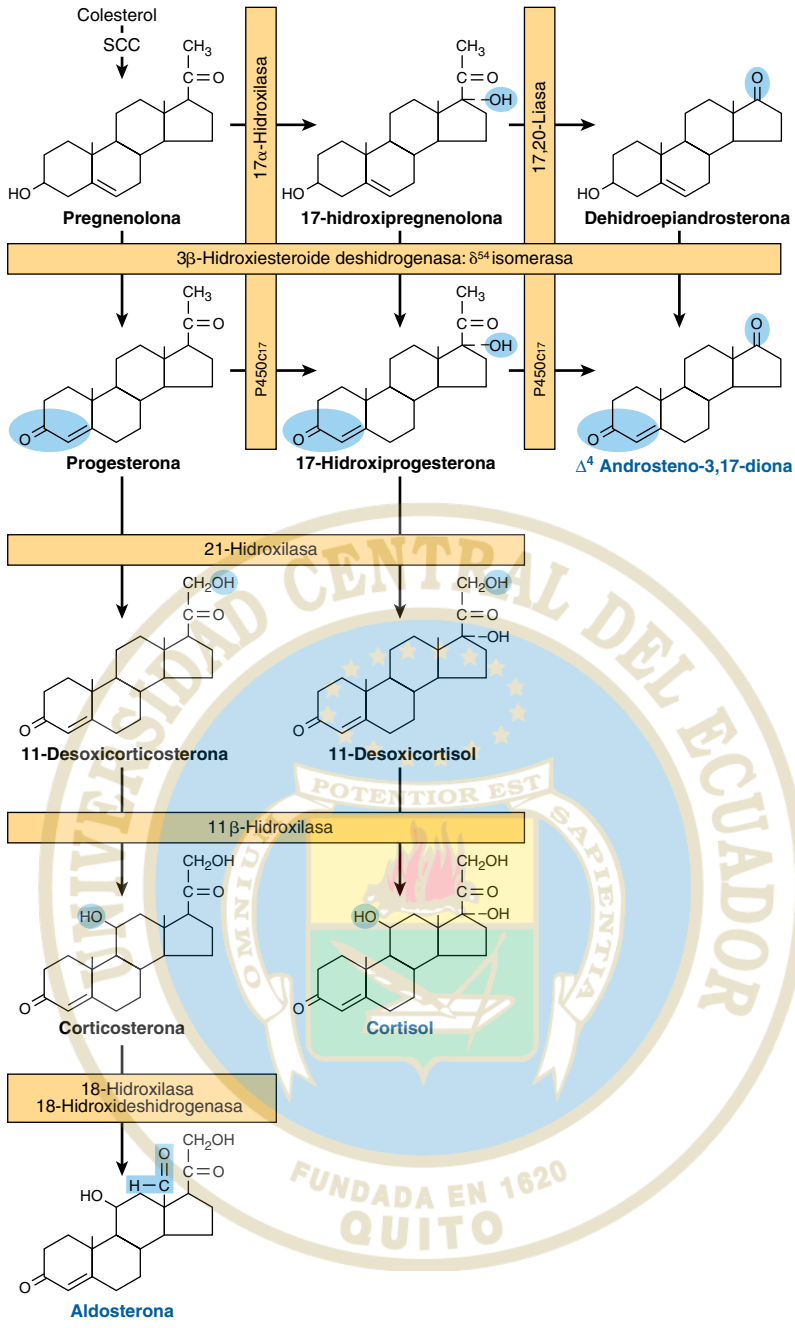


FIGURA 41-4 Vías comprendidas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales (mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos). Las enzimas se muestran en los rectángulos y las modificaciones en cada paso están sombreadas. Note que las actividades de la 17 α-hidroxilasa y 17,20-liasa forman parte de una enzima, designada P450c17. (Modificado y reproducido, con autorización, de Harding BW: En: Endocrinology, vol 2. DeGroot LJ [editor]. Grune & Stratton, 1979. Copyright © 1979 Elsevier Inc. Reimpreso con autorización de Elsevier).

Síntesis de glucocorticoide

La síntesis de cortisol requiere tres hidroxilasas ubicadas en las zonas fasciculada y reticular de la corteza suprarrenal que actúan secuencialmente sobre las posiciones C_{17}, C_{21} y C_{11}. Las primeras dos reacciones son rápidas, mientras que la hidroxilación de C_{11} es relativamente lenta. Si la posición C_{11} se hidroxila primero, la acción de la **17α-hidroxilasa** queda obstaculizada, y se sigue la vía de mineralocorticoide (lo que forma corticosterona o aldosterona, dependiendo del tipo de célula). La 17α-hidroxilasa es una enzima del retículo endoplásmico liso que actúa sobre la progesterona o, con mayor frecuencia, sobre la pregnenolona. La 17α-hidroxiprogesterona se hidroxila en C_{21} para formar 11-desoxicortisol, que a continuación se hidroxila en C_{11} para formar cortisol, la hormona glucocorticoide natural más potente

en seres humanos. La 21-hidroxilasa es una enzima del retículo endoplásmico liso, mientras que la 11β-hidroxilasa es una enzima mitocondrial. De esta manera, la esteroidogénesis involucra el transborde repetido de sustratos hacia adentro y hacia afuera de las mitocondrias.

Síntesis de andrógeno

El principal andrógeno o precursor de andrógeno producido por la corteza suprarrenal es la dehidroepiandrosterona (DHEA). Casi toda la 17-hidroxipregnenolona sigue la vía de los glucocorticoides, pero una pequeña fracción queda sujeta a fisión oxidativa y eliminación de la cadena lateral de dos carbonos por medio de la acción de la 17,20-liasa. La actividad de liasa en realidad forma parte de la misma enzima (P450c17) que cataliza la 17 α-hidroxilación. Por ende, ésta es una **proteína de función doble**. La actividad de liasa tiene importancia tanto en las suprarrenales como en las gónadas, y actúa de modo exclusivo sobre moléculas que contienen 17 α-hidroxi. La producción de andrógenos en las suprarrenales se incrementa de manera notoria si la biosíntesis de glucocorticoide queda obstaculizada por la falta de una de las hidroxilasas (**síndrome adrenogenital**). La DHEA de hecho es una prohormona, dado que las acciones de la 3β-OHSD y de la $\Delta^{5,4}$-isomerasa convierten el andrógeno débil DHEA en la **androstenediona**, que es más potente. Asimismo, se forman pequeñas cantidades de androstenediona en las suprarrenales mediante la acción de la liasa sobre la 17α-hidroxiprogesterona. La disminución de la androstenediona en la posición C_{17} da por resultado la formación de **testosterona**, el andrógeno suprarrenal más potente. Pequeñas cantidades de testosterona se producen en las suprarrenales por medio de este mecanismo, pero la mayor parte de esta conversión ocurre en los testículos.

Esteroidogénesis testicular

Los andrógenos testiculares se sintetizan en el tejido intersticial por las células de Leydig. El precursor inmediato de los esteroides gonadales, al igual que para los esteroides suprarrenales, es el colesterol. El paso limitante, al igual que en las suprarrenales, es el aporte de colesterol a la membrana interna de las mitocondrias mediante la proteína de transporte StAR. Una vez que el colesterol se encuentra en la ubicación apropiada, la enzima de división de cadena lateral P450scc actúa sobre él. La conversión de colesterol en pregnenolona es idéntica en las suprarrenales, los ovarios y los testículos. Con todo, en estos dos últimos tejidos la reacción es promovida por la LH más que por la ACTH.

La conversión de pregnenolona en testosterona necesita la acción de cinco actividades enzimáticas contenidas en tres proteínas: 1) 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-OHSD) y $\Delta^{5,4}$-isomerasa; 2) 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa, y 3) 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-OHSD). Esta secuencia se denomina la vía de la **progesterona** (o **Δ^4**) (**figura 41-5**, lado derecho). La pregnenolona también puede convertirse en testosterona por la vía de la **dehidroepiandrosterona** (o **Δ^5**) (figura 41-5, lado izquierdo). La ruta Δ^5 parece ser la más usada en los testículos de humano.

Las cinco actividades enzimáticas están localizadas en la fracción microsómica en los testículos de rata, y hay un estrecho vínculo funcional entre las actividades de la 3β-OHSD y la $\Delta^{5,4}$-isomerasa, y entre las de la 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa. Estos pares de enzimas, ambos contenidos en una proteína única, se muestran en la secuencia de reacción general en la figura 41-5.

La dihidrotestosterona se forma a partir de testosterona en tejidos periféricos

La testosterona se metaboliza mediante dos vías. Una involucra oxidación en la posición 17, y la otra reducción del doble enlace del anillo A y la 3-cetona. El metabolismo por medio de la primera vía sucede en muchos tejidos, incluso el hígado, y produce 17-cetosteroides que por lo general son inactivos o menos activos que el compuesto original. El metabolismo mediante la segunda vía, que es menos eficiente, ocurre principalmente en tejidos blanco y produce el potente metabolito dihidrotestosterona (DHT).

La DHT es el producto metabólico más importante de la testosterona, porque en muchos tejidos, entre ellos la próstata, los genitales externos y algunas áreas de la piel, ésta es la forma activa de la hormona. El contenido de DHT en el plasma en el varón adulto es de aproximadamente una décima parte del de testosterona y alrededor de 400 μg de DHT se producen al día en comparación con unos 5 mg de testosterona. Los testículos secretan alrededor de 5 a 10 μg de DHT. El resto se produce en la periferia a partir de la testosterona en una reacción catalizada por la **5α-reductasa** dependiente de NADPH (**figura 41-6**). Así, la testosterona puede considerarse una prohormona, porque se convierte en un compuesto mucho más potente (la dihidrotestosterona, DHT), y porque la mayor parte de esta conversión sucede fuera de los testículos. Se forma algo de estradiol a partir de la aromatización periférica de la testosterona, particularmente en varones.

Esteroidogénesis ovárica

Los estrógenos son una familia de hormonas que se sintetizan en diversos tejidos. El 17β-estradiol es el estrógeno primario de origen ovárico. En algunas especies, la estrona, que se sintetiza en muchos tejidos, es más abundante. Durante el embarazo, se produce relativamente más estriol, y éste proviene de la placenta. La vía general y la ubicación subcelular de las enzimas involucradas en los pasos tempranos de la síntesis de estradiol son las mismas que las implicadas en la biosíntesis de andrógeno. Las características singulares para los ovarios se ilustran en la **figura 41-7**.

Los estrógenos se forman por medio de la aromatización de andrógenos en un proceso complejo que comprende tres pasos de hidroxilación, cada uno de los cuales requiere O_2 y NADPH. Se cree que el **complejo enzimático aromatasa** incluye una P450 monooxigenasa. El estradiol se forma si el sustrato de este complejo enzimático es testosterona, mientras que se produce estrona a partir de la aromatización de la androstenediona.

La fuente celular de los diversos esteroides ováricos ha sido difícil de descubrir, pero está involucrada una transferencia de sustratos entre dos tipos de célula. Las células de la teca son la fuente de la androstenediona y la testosterona, las cuales se convierten, mediante la enzima aromatasa, en células de la granulosa en estrona y estradiol, respectivamente. La progesterona, un precursor de todas las hormonas esteroides, se produce y secreta en el cuerpo amarillo como una hormona producto terminal, por-

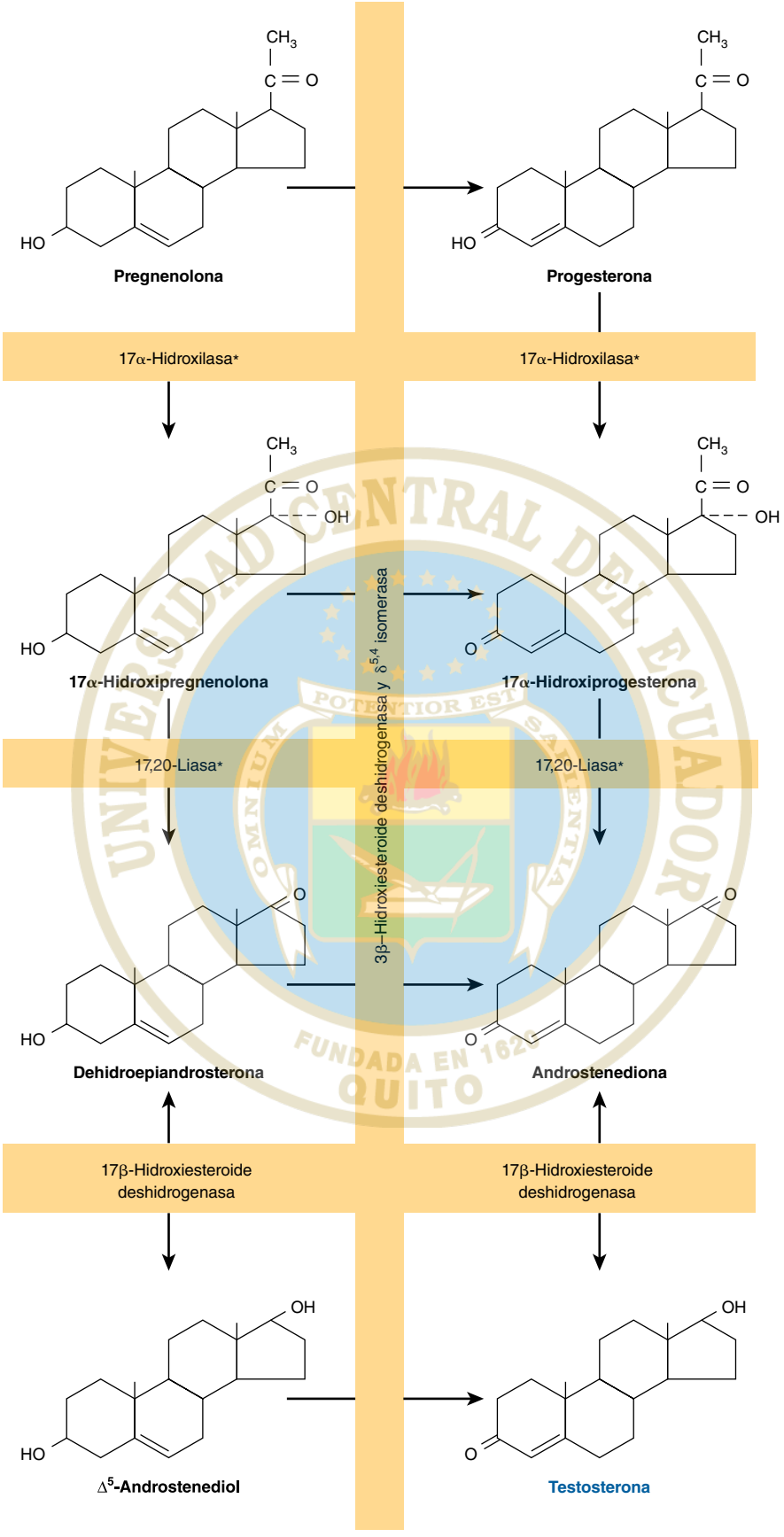


FIGURA 41-5 Vías de la biosíntesis de testosterona. La vía en el lado izquierdo de la figura se llama la vía de la Δ^5 o de la dehidroepiandrosterona; la vía en el lado derecho se denomina la vía Δ^4 o de la progesterona. El asterisco indica que las actividades de la 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa residen en una proteína única, P450c17.

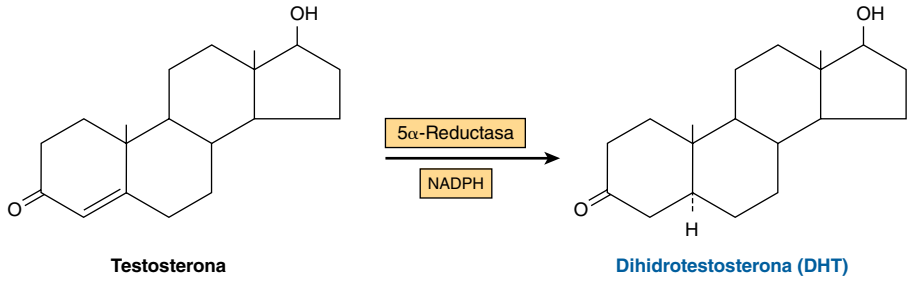


FIGURA 41-6 **La dihidrotestosterona se forma a partir de testosterona por medio de la acción de la enzima 5 α-reductasa.**

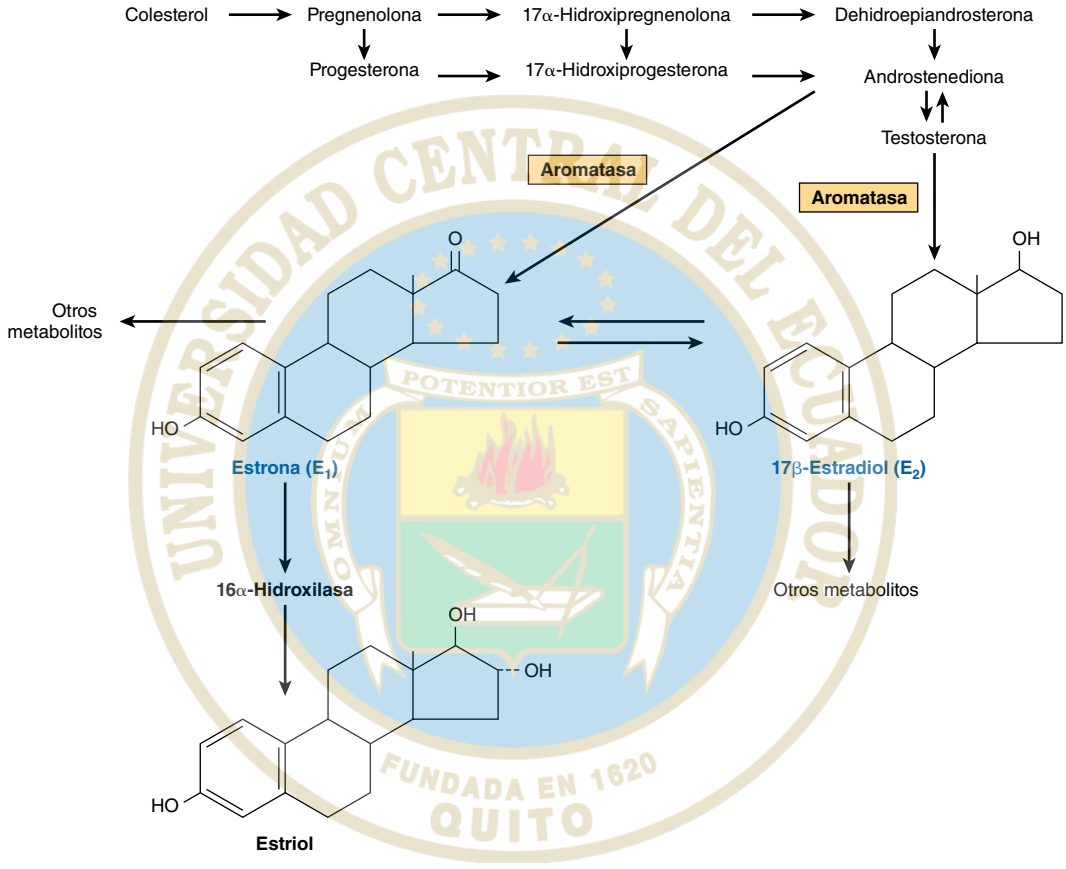


FIGURA 41-7 **Biosíntesis de estrógenos.** (Modificado y reproducido, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2005).

que estas células no contienen las enzimas necesarias para convertir progesterona en otras hormonas esteroides (**figura 41-8**).

Se producen cantidades importantes de estrógenos por medio de la aromatización periférica de andrógenos. En varones, la aromatización periférica de la testosterona hacia estradiol (E_2) explica 80% de la producción de este último. En mujeres, los andrógenos suprarrenales son sustratos importantes, puesto que hasta 50% del E_2 producido en el transcurso de la gestación proviene de la aromatización de andrógenos. Finalmente, la conversión de androstenediona en estrona es la principal fuente de estrógenos en mujeres posmenopáusicas. La actividad de aromatasa está presente en células adiposas y en el hígado, la piel y otros tejidos. La actividad aumentada de esta enzima puede contribuir a la "estrogenización" que caracteriza a enfermedades como cirrosis del hígado, hipertiroidismo, envejecimiento y obesidad. Los inhibidores de aromatasa se muestran promisorios como agentes terapéuticos en el cáncer mamario y posiblemente en otras enfermedades malignas de las vías reproductoras femeninas.

El 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (calcitriol) se sintetiza a partir de un derivado del colesterol

El 1,25(OH)$_2$-D$_3$ se produce mediante una serie compleja de reacciones enzimáticas que involucran el transporte plasmático de moléculas precursoras hacia diversos tejidos (**figura 41-9**). Uno de estos precursores es la vitamina D, que en realidad no es una vitamina, pero persiste este nombre común. La molécula activa, 1,25(OH)$_2$-D$_3$, se transporta hacia otros órganos donde

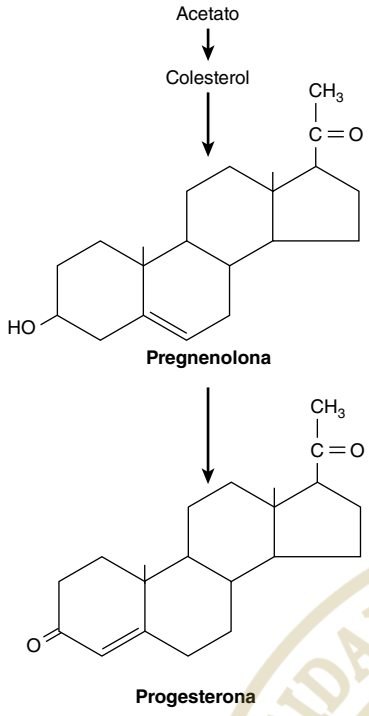


FIGURA 41-8 **Biosíntesis de progesterona en el cuerpo amarillo.**

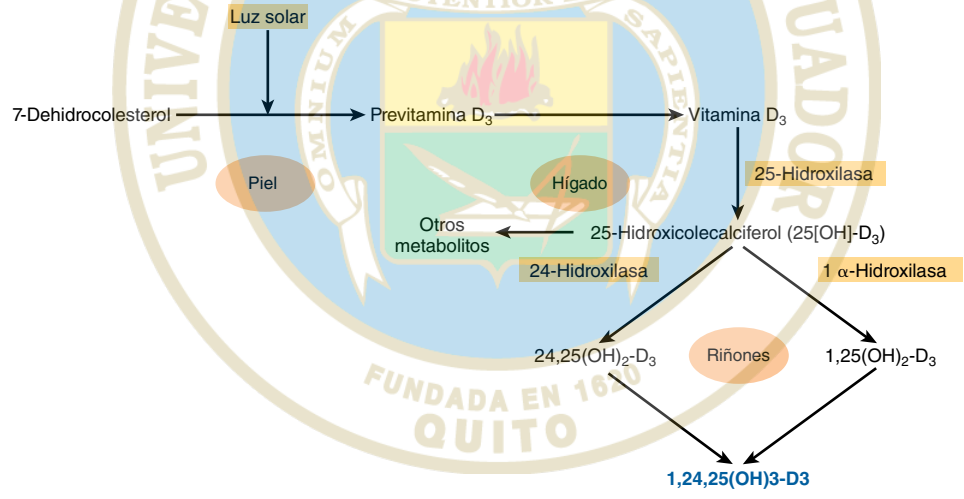
desencadena procesos biológicos de un modo similar al empleado por las hormonas esteroides.

Piel

Pequeñas cantidades del precursor para la síntesis de $1,25(OH)_2$-D_3 están presentes en alimentos (aceite de hígado de pescado, yema de huevo), pero la mayor parte del precursor se produce en la capa de Malpighi de la epidermis a partir del 7-dehidrocolesterol en una reacción de **fotólisis** no enzimática, mediada por luz ultravioleta. La magnitud de esta conversión se relaciona de manera directa con la intensidad de la exposición e inversamente con la magnitud de la pigmentación de la piel. Hay una pérdida (relacionada con la edad) del 7-dehidrocolesterol en la epidermis, que quizá muestre vínculo con el balance negativo de calcio relacionado con la edad avanzada.

Hígado

Una proteína de transporte específica, la **proteína de unión a vitamina D** se une a la vitamina D_3 y sus metabolitos, y mueve a la vitamina D_3 desde la piel o el intestino hacia el hígado, donde pasa por 25-hidroxilación, la primera reacción obligatoria en la producción de $1,25(OH)_2$-D_3. La 25-hidroxilación ocurre en el retículo endoplásmico en una reacción que necesita



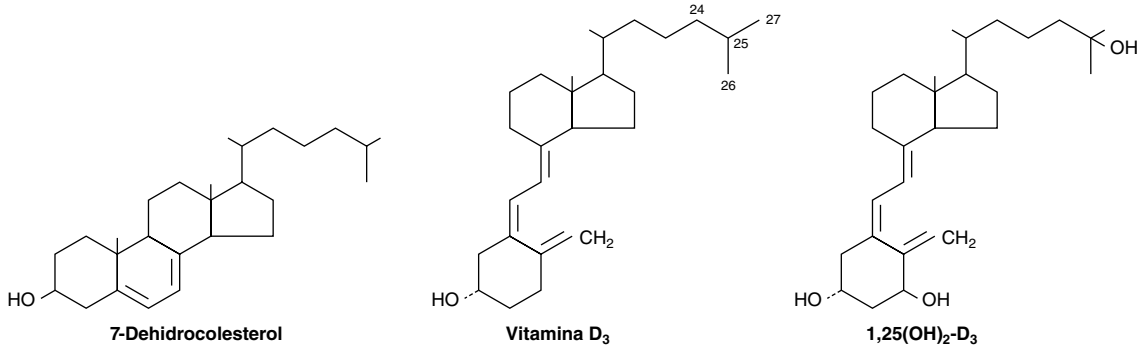


FIGURA 41-9 **Formación e hidroxilación de la vitamina D_3.** La 25-hidroxilación tiene lugar en el hígado, y las otras hidroxilaciones, en los riñones. Probablemente también se forman $25,26(OH)_2$-D_3 y $1,25,26(OH)_3$-D_3. Asimismo, se muestran las estructuras del 7-dehidrocolesterol, vitamina D_3, y $1,25(OH)_2$-D_3. (Modificado y reproducido, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2005).

magnesio, NADPH, oxígeno molecular, y un factor citoplásmico no caracterizado. Participan dos enzimas: una citocromo P450 reductasa dependiente de NADPH, y un citocromo P450; esta reacción es no regulada, y sucede también con baja eficiencia en los riñones y el intestino. El $25(OH)_2$-D_3 entra en la circulación, donde es la principal forma de vitamina D que se encuentra en el plasma, y se transporta hacia los riñones por medio de la proteína de unión a vitamina D.

Riñones

El $25(OH)_2$-D_3 es un agonista débil, y debe modificarse mediante hidroxilación en la posición C_1 para que tenga actividad biológica completa. Esto se logra en las mitocondrias del túbulo contorneado proximal renal por medio de una reacción de monooxigenasa de tres componentes que requiere NADPH, Mg^{2+}, oxígeno molecular y al menos tres enzimas: 1) una flavoproteína, ferredoxina reductasa renal; 2) una proteína de hierro-azufre, ferredoxina renal, y 3) citocromo P450. Este sistema produce $1,25(OH)_2$-D_3, que es el metabolito natural más potente de la vitamina D.

LAS CATECOLAMINAS Y LAS HORMONAS TIROIDEAS SE FORMAN A PARTIR DE TIROSINA

Las catecolaminas son sintetizadas en forma final y almacenadas en gránulos de secreción

Tres aminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina) se sintetizan a partir de la tirosina en las células cromafines de la médula suprarrenal. El principal producto de la médula suprarrenal es la adrenalina; este compuesto constituye 80% de las catecolaminas en la médula y no se produce en tejido extramedular. En contraste, la mayor parte de la noradrenalina presente en órganos inervados por nervios simpáticos se sintetiza *in situ* (alrededor de 80% del total), y la mayor parte del resto se produce en otras terminaciones nerviosas y alcanza los sitios blanco mediante la circulación. La adrenalina y la noradrenalina se pueden producir y almacenar en diferentes células en la médula suprarrenal y otros tejidos cromafines.

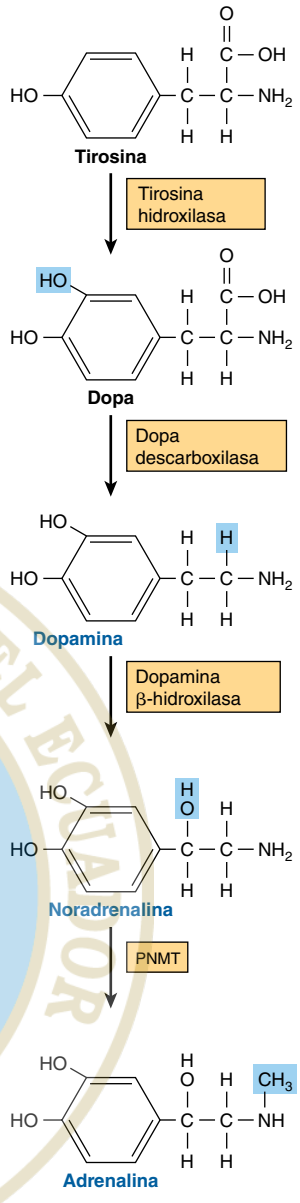


FIGURA 41-10 **Biosíntesis de catecolaminas.** (PNMT, feniletanolamina-*N*-metiltransferasa).

La conversión de la tirosina en adrenalina necesita cuatro pasos secuenciales: 1) hidroxilación de anillo; 2) descarboxilación; 3) hidroxilación de cadena lateral para formar noradrenalina, y 4) *N*-metilación para formar adrenalina. La **figura 41-10** ilustra la vía biosintética y las enzimas involucradas.

La tirosina hidroxilasa es limitante para la biosíntesis de catecolamina

La **tirosina** es el precursor inmediato de las catecolaminas y la **tirosina hidroxilasa** es la enzima limitante en la biosíntesis de catecolamina. La tirosina hidroxilasa se encuentra en formas tanto soluble como unida a partículas sólo en los tejidos que sintetizan catecolaminas; funciona como una oxidorreductasa, con tetrahidropteridina como un cofactor, para convertir a la L-tirosina en L-dihidroxifenilalanina (**L-dopa**). Como la enzima limitante, la tirosina hidroxilasa se regula de diversas maneras. El mecanismo de mayor importancia comprende inhibición por retroacción por las catecolaminas, que compiten con la enzima por el cofactor pteridina. Las catecolaminas no pueden cruzar la barrera hematoencefálica; por consiguiente, en el cerebro se deben sintetizar localmente. En ciertas enfermedades del sistema nervioso central (p. ej., enfermedad de Parkinson), hay una deficiencia local de síntesis de dopamina. La L-dopa, el precursor de la dopamina, cruza con facilidad la barrera hematoencefálica y, de este modo, es un agente importante en el tratamiento de enfermedad de Parkinson.

La dopa descarboxilasa está presente en todos los tejidos

Esta enzima soluble requiere fosfato de piridoxal para la conversión de L-dopa en 3,4-dihidroxifeniletilamina (**dopamina**). Los compuestos que semejan L-dopa, como α-metildopa, son inhibidores competitivos de esta reacción. La α-metildopa es eficaz para tratar algunos tipos de hipertensión.

La dopamina β-hidroxilasa (DBH) cataliza la conversión de dopamina en noradrenalina

La DBH es una monooxigenasa, y usa ascorbato como un donador de electrón, cobre en el sitio activo, y fumarato como modulador. La DBH está en la fracción particulada de las células medulares, probablemente en el gránulo de secreción; de esta manera, la dopamina se convierte en **noradrenalina** en este organelo.

La feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT) cataliza la producción de adrenalina

La PNMT cataliza la *N*-metilación de la noradrenalina para formar **adrenalina** en las células formadoras de adrenalina de la médula suprarrenal. Dado que la PNMT es soluble, se supone que la noradrenalina se convierte en adrenalina en el citoplasma. La síntesis de PNMT es inducida por hormonas glucocorticoides que llegan a la médula por medio del sistema porta intradrenal. Este sistema especial proporciona un gradiente de concentración de esteroide de 100 veces sobre la sangre arterial sistémica, y esta cifra intraadrenal alta parece ser necesaria para la inducción de PNMT.

La T_3 y T_4 ilustran la diversidad en la síntesis de hormona

La formación de **triyodotironina** (T_3) y **tetrayodotironina (tiroxina; T_4)** (figura 41-2) ilustra muchos de los principios de diversidad comentados en este capítulo. Estas hormonas necesitan un elemento raro (yodo) para tener bioactividad; se sintetizan como parte de una molécula precursora muy grande (tiroglobulina); se almacenan en un reservorio intracelular (coloide), y hay conversión periférica de T_4 en T_3, que es una hormona mucho más activa.

Las hormonas tiroideas T_3 y T_4 son singulares por cuanto el yodo (como yoduro) es un componente esencial de ambas. En casi todo el mundo, el yodo es un componente escaso del suelo, y por eso hay poco en los alimentos. La evolución ha creado un mecanismo complejo para adquirir y retener este elemento crucial, y convertirlo en una forma idónea para la incorporación hacia compuestos orgánicos. Al mismo tiempo, la tiroides debe sintetizar tironina a partir de tirosina, y esta síntesis tiene lugar en la tiroglobulina (**figura 41-11**).

La **tiroglobulina** es el precursor de T_4 y T_3. Es una proteína glucosilada, yodada, grande, con una masa molecular de 660 kDa. El carbohidrato explica 8 a 10% del peso de la tiroglobulina, y el yoduro un 0.2 a 1%, según el contenido de yodo en la dieta. La tiroglobulina está compuesta de dos subunidades grandes. Contiene 115 residuos tirosina, cada uno de los cuales es un sitio potencial de yodación. Alrededor de 70% del yoduro en la tiroglobulina existe en los precursores inactivos, **monoyodotirosina (MIT)** y **diyodotirosina (DIT)**, mientras que 30% está en los **residuos yodotironilo,** T_4 y T_3. Cuando el suministro de yodo es suficiente, la proporción T_4:T_3 es de aproximadamente 7:1. En la **deficiencia de yodo**, esta proporción disminuye, al igual que la proporción DIT:MIT. La tiroglobulina, una molécula grande de alrededor de 5 000 aminoácidos, proporciona la conformación requerida para el acoplamiento de tirosilo y la organificación de yoduro necesarias en la formación de las hormonas tiroideas diaminoácido. Se sintetiza en la porción basal de la célula, y se mueve hacia la luz, donde constituye una forma de almacenamiento de T_3 y T_4 en el coloide; en la tiroides normal existe reserva de estas hormonas para varias semanas. Minutos después de estimulación de la tiroides por TSH, el coloide vuelve a entrar en la célula, y hay un notorio incremento de la actividad de fagolisosoma. Diversas proteasas y peptidasas ácidas hidrolizan la tiroglobulina hacia los aminoácidos que la constituyen, incluso T_4 y T_3, que se descargan en el espacio extracelular (figura 41-11). Así, la tiroglobulina es una prohormona muy grande.

El metabolismo de yoduro incluye varios pasos separados

La tiroides tiene la capacidad para concentrar I^- contra un gradiente electroquímico fuerte. Éste es un proceso dependiente de energía, y está enlazado al transportador de I^- tiroideo dependiente de Na^+-K^+-ATPasa. La proporción entre yoduro en la tiroides y yoduro en el suero (proporción T:S) es un reflejo de la actividad de este transportador. Esta actividad es controlada sobre todo por la TSH, y varía desde 500:1 en animales estimulados de modo crónico con TSH, hasta 5:1 o menos en animales hipofisectomizados (sin TSH). La proporción T:S en seres humanos que reciben una dieta con contenido normal de yodo es de aproximadamente 25:1.

La tiroides es el único tejido capaz de oxidar I^- hacia un estado de valencia más alto, un paso obligatorio en la organificación de I^- y la biosíntesis de hormona tiroidea. Este paso comprende una peroxidasa que contiene hem y sucede en la superficie luminal de la célula folicular. La tiroperoxidasa, una proteína tetramérica con una masa molecular de 60 kDa, requiere peróxido de hidrógeno como un agente oxidante. El H_2O_2 se produce mediante una enzima dependiente de NADPH que semeja a la citocromo *c* reductasa. Varios compuestos inhiben la oxidación de I^- y, por tanto, su incorporación subsiguiente hacia MIT y DIT. Los más importantes de éstos son los fármacos tiourea, que se usan como antitiroideos debido a su capacidad para inhibir la biosíntesis de hormona tiroidea en este paso. Una vez que ocurre yodación, el yodo no abandona con facilidad la tiroides. La tirosina libre se puede yodar, pero no se incorpora hacia proteínas puesto que ningún tRNA reconoce la tirosina yodada.

El acoplamiento de dos moléculas de DIT para formar T_4 (o de una MIT y DIT para formar T_3) sucede dentro de la molécula de tiroglobulina. No se ha encontrado una enzima acopladora separada, y dado que éste es un proceso oxidativo, se asume que la misma tiroperoxidasa cataliza esta reacción al estimular la formación de radical libre de yodotirosina. Esta hipótesis recibe apoyo por la observación de que los mismos medicamentos que inhiben la oxidación de I^- también inhiben el acoplamiento. Las hormonas tiroideas formadas permanecen como partes integrales de la tiroglobulina hasta que esta última se degrada, como se describió.

Una desyodasa elimina I^- de las moléculas de monoyodotironina y diyodotironina inactivas en la tiroides. Este mecanismo proporciona una cantidad considerable del I^- que se usa en la biosíntesis de T_3 y T_4. Una desyodasa periférica en tejidos blanco como la hipófisis, los riñones y el hígado, elimina de manera

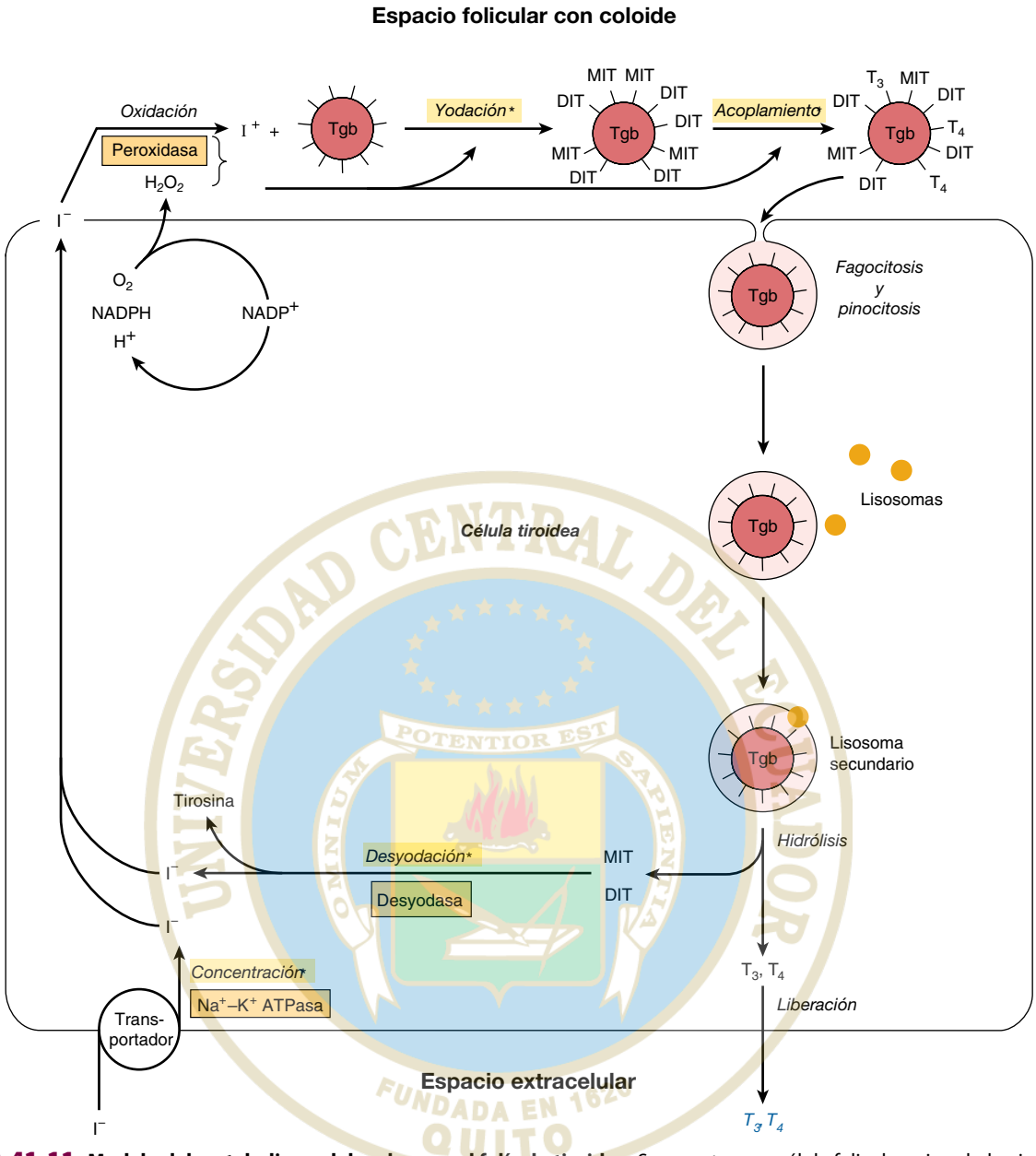


FIGURA 41-11 Modelo del metabolismo del yoduro en el folículo tiroideo. Se muestra una célula folicular mirando hacia la luz folicular (arriba) y el espacio extracelular (abajo). El yoduro entra en la tiroides principalmente por medio de un transportador (abajo a la izquierda). La hormona tiroidea se sintetiza en el espacio folicular por medio de una serie de reacciones, muchas de las cuales están mediadas por peroxidasa. Las hormonas tiroideas, almacenadas en el coloide en el espacio folicular, se liberan de la tiroglobulina mediante hidrólisis dentro de la célula tiroidea. (Tgb, tiroglobulina; MIT, monoyodotirosina; DIT, diyodotirosina; T_3, triyodotironina; T_4, tetrayodotironina). Los asteriscos indican los pasos o los procesos donde las deficiencias hereditarias de enzima producen bocio congénito y, a menudo, hipotiroidismo.

selectiva I^- desde la posición 5′ de T_4 para hacer T_3 (figura 41-2), que es una molécula bastante más activa. En este sentido, la T_4 puede considerarse una prohormona, aun cuando tiene algo de actividad intrínseca.

Varias hormonas se sintetizan a partir de precursores peptídicos de mayor tamaño

La formación de los puentes disulfuro cruciales en la insulina exige que esta hormona se sintetice primero como parte de una molécula precursora de mayor tamaño, la proinsulina. Desde el punto de vista conceptual, esto es similar al ejemplo de las hormonas tiroideas, que sólo pueden formarse en el contexto de una molécula de mucho mayor tamaño. Varias otras hormonas se sintetizan como partes de moléculas precursoras grandes, no debido a algún requerimiento estructural especial, sino más bien como un mecanismo para controlar la cantidad disponible de la hormona activa. La PTH y la angiotensina II son ejemplos de este tipo de regulación. Otro ejemplo interesante es la proteína POMC, la cual puede procesarse hacia muchas hormonas diferentes de un modo específico para tejido. Estos ejemplos se comentan con detalle más adelante.

La insulina se sintetiza como una preprohormona y se modifica dentro de la célula β

La insulina tiene una estructura heterodimérica AB con un puente disulfuro intracadena (A6-A11) y dos puentes disulfuro intercadena (A7-B7 y A20-B19) (**figura 41-12**). Las cadenas A y B pudieron sintetizarse en el laboratorio, pero los intentos por efectuar una síntesis bioquímica de la molécula de insulina madura dieron muy malos resultados. La razón de esto quedó de manifiesto cuando se descubrió que la insulina se sintetiza como una **preprohormona** (masa molecular relativa [peso molecular] de alrededor de 11 500), que es el prototipo para péptidos que se procesan a partir de moléculas precursoras de mayor tamaño. La secuencia de 23 aminoácidos hidrofóbica pre-, o líder, dirige a la molécula hacia las cisternas del retículo endoplásmico, y después se elimina. Esto origina la molécula de proinsulina de masa molecular relativa (peso molecular) de 9 000, que proporciona la conformación necesaria para la formación apropiada y eficiente de los puentes disulfuro. La secuencia de la proinsulina, empezando a partir del amino terminal, es cadena B — péptido conector (C) — cadena A. La molécula de proinsulina pasa por una serie de divisiones peptídicas específicas para sitio que causan la formación de cantidades equimolares de insulina madura y péptido C. Estas divisiones enzimáticas se resumen en la figura 41-12.

La hormona paratiroidea (PTH) se secreta como un péptido de 84 aminoácidos

El precursor inmediato de la PTH es la **proPTH**, que difiere de la hormona de 84 aminoácidos natural por tener una extensión hexapéptido aminoterminal muy básica. El producto de gen primario y el precursor inmediato para la proPTH es la **preproPTH** de 115 aminoácidos. Ésta difiere de la proPTH porque tiene una extensión amino terminal de 25 aminoácidos NH_2^- adicional que, en común con las otras secuencias líder o de señal típicas de las proteínas secretadas, es hidrofóbica. La estructura completa de la preproPTH y las secuencias de la proPTH y la PTH se ilustran en la **figura 41-13**. La PTH_{1-34} tiene actividad biológica completa y la región 25-34 se encarga principalmente de la unión a receptor.

La biosíntesis de la PTH y su secreción subsiguiente se regulan por la concentración plasmática de calcio ionizado (Ca^{2+}) por medio de un proceso complejo. Una disminución aguda del Ca^{2+} suscita un aumento notorio del mRNA de PTH, y esto va seguido por un índice incrementado de síntesis y secreción de PTH. Aun así, entre 80 a 90% de la proPTH sintetizada no puede explicarse como PTH intacta en las células o en el medio de incubación de sistemas experimentales. Este dato dio pie a la conclusión de que la mayor parte de la proPTH sintetizada se degrada con rapidez. Más tarde se descubrió que este índice de degradación se reduce cuando las cifras de Ca^{2+} son bajas y aumenta cuando son altas. Un receptor de Ca^{2+} sobre la superficie de la célula paratiroidea media estos efectos. Fragmentos muy específicos de la PTH se generan durante su digestión proteolítica (figura 41-13). Varias enzimas proteolíticas, entre ellas catepsinas B y D, se han identificado en el tejido paratiroideo. La catepsina B divide la PTH en dos fragmentos: PTH_{1-36} y PTH_{37-84}. Esta última no se degrada más; comoquiera que sea, la PTH_{1-36} se divide con rapidez y de manera progresiva hacia dipéptidos y tripéptidos. Casi toda la proteólisis de la PTH ocurre dentro de la glándula, pero varios estudios confirman que la PTH, una vez secretada, se degrada de modo proteolítico en otros tejidos, en particular el hígado, mediante mecanismos similares.

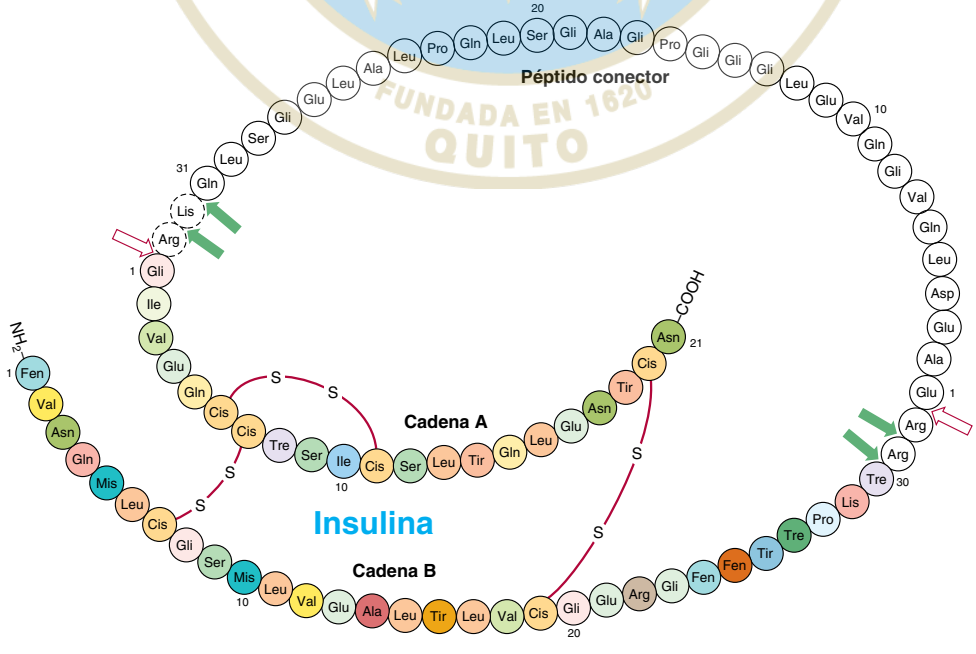


FIGURA 41-12 Estructura de la proinsulina humana. Las moléculas de insulina y péptido C están conectadas en dos sitios por medio de enlaces dipeptídicos. Una división inicial mediante una enzima parecida a tripsina (flechas blancas) seguida por varias divisiones por medio de una enzima parecida a carboxipeptidasa (flechas verdes) ocasionan la producción de una molécula de insulina heterodimérica (AB) (a colores) y el péptido C (de color blanco).

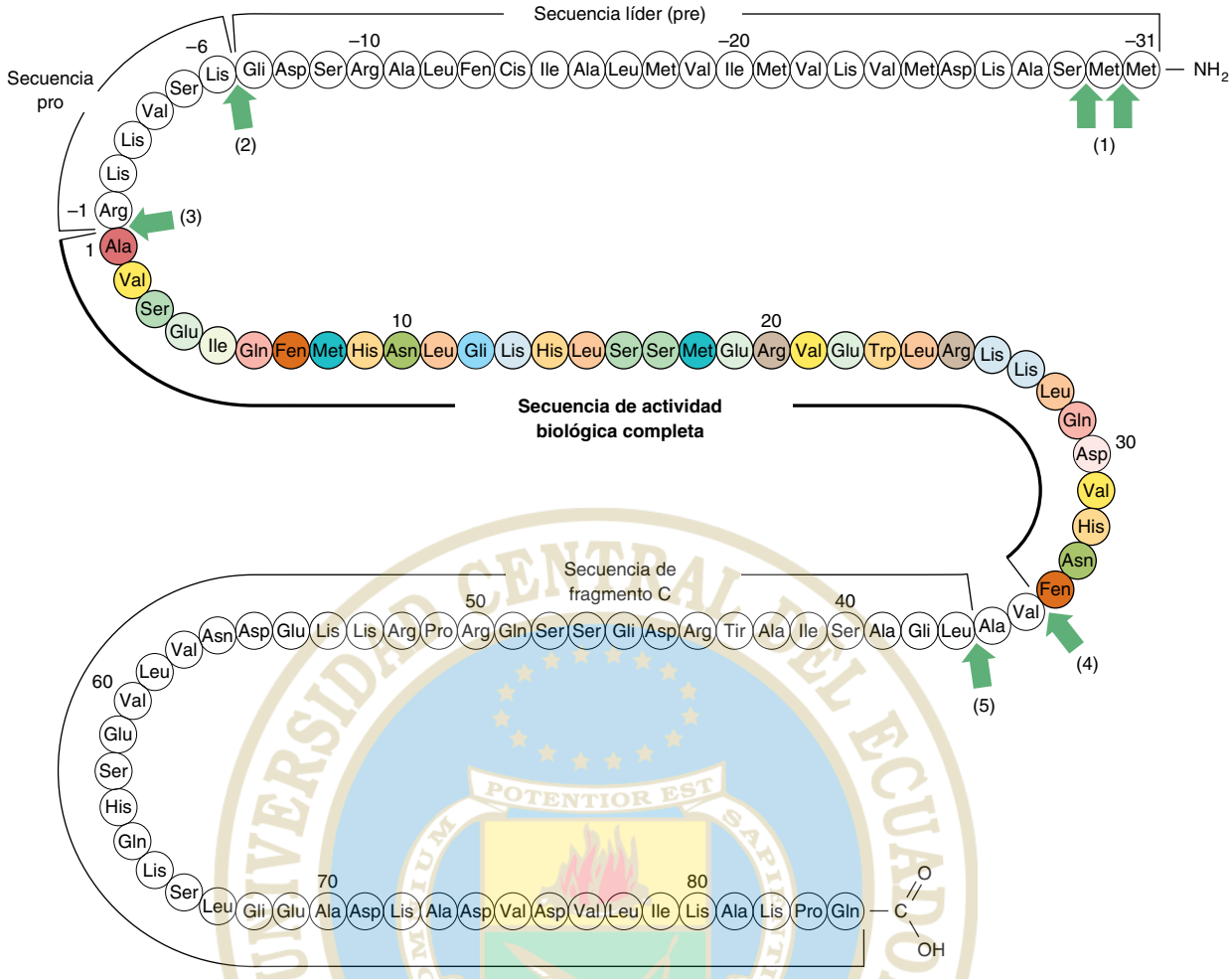


FIGURA 41-13 **Estructura de la hormona preproparatiroidea bovina.** Las flechas indican los sitios divididos mediante enzimas procesadoras en la glándula paratiroides y en el hígado después de secreción de la hormona (1-5). La región biológicamente activa de la molécula (a colores) está flanqueada por secuencia no requerida para actividad sobre receptores blanco. (Modificado y reproducido, con autorización, de Habener JF: Recent advances in parathyroid hormone research. Clin Biochem 1981;14:223. Copyright © 1981. Reimpreso con autorización de Elsevier).

La angiotensina II también se sintetiza a partir de un precursor grande

El sistema de renina-angiotensina participa en la regulación de la presión arterial y el metabolismo de electrólitos (por medio de la producción de aldosterona). La hormona primaria incluida en estos procesos es la angiotensina II, un octapéptido que se sintetiza a partir del angiotensinógeno (**figura 41-14**). El angiotensinógeno, una globulina α_2 grande producida en el hígado, es el sustrato para la renina, una enzima que se produce en las células yuxtaglomerulares de la arteriola aferente renal. La posición de estas células las hace en especial sensibles a cambios de la presión arterial, y muchos de los reguladores fisiológicos de la liberación de renina actúan mediante barorreceptores renales. Las células yuxtaglomerulares también son sensibles a cambios de la concentración de Na^+ y Cl^- en el líquido de los túbulos renales; en consecuencia, cualquier combinación de factores que disminuya el volumen de líquido (deshidratación, decremento de la presión arterial, pérdida de líquido o de sangre) o la cifras de NaCl, estimula la liberación de renina. Los nervios simpáticos renales que terminan en las células yuxtaglomerulares median los efectos del sistema nervioso central y posturales sobre la liberación de renina de manera independiente de los efectos del barorreceptor y de la sal, un mecanismo que comprende el receptor β-adrenérgico. La renina actúa sobre el angiotensinógeno sustrato para producir el decapéptido angiotensina I.

La enzima convertidora de angiotensina, una glucoproteína que se encuentra en los pulmones, las células endoteliales y el plasma, elimina dos aminoácidos carboxilo terminal del decapéptido angiotensina I para formar angiotensina II en un paso que no se cree que sea limitante. Diversos análogos nonapéptidos de la angiotensina I y otros compuestos actúan como inhibidores competitivos de la enzima convertidora, y se usan para tratar hipertensión dependiente de renina. Éstos se denominan **inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE)**. La angiotensina II incrementa la presión arterial al ocasionar vasoconstricción de las arteriolas, y es una sustancia vasoactiva muy potente. Inhibe la liberación de renina a partir de las células yuxtaglomerulares, y es un potente estimulador de la producción de aldosterona. Esto se traduce en retención de Na^+, expansión de volumen, y presión arterial aumentada.

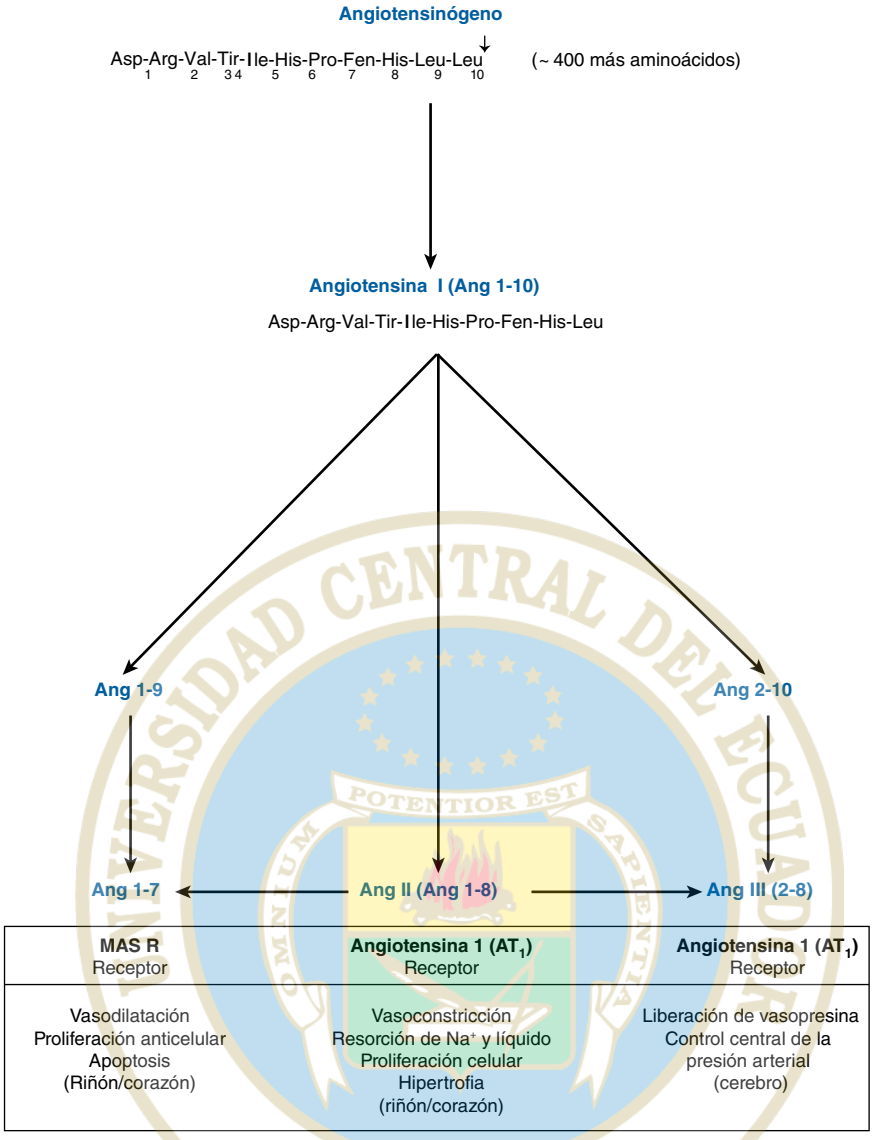


FIGURA 41-14 Formación, metabolismo y actividades fisiológicas seleccionadas de angiotensina. Se muestran las tres formas más biológicamente activas de la angiotensina (Ang): Ang 1-7, Ang 1-8 (Ang II) y Ang 2-8 (Ang III). Los números representan los aminoácidos presentes en cada Ang, y están numerados respecto a la secuencia de Ang 1-10 (Ang I). Todas las formas de Ang se derivan mediante proteólisis catalizada por diversas proteasas diferentes. El procesamiento inicial del precursor angiotensinógeno de 400+ aminoácidos de largo es catalizado por la renina, mientras que varios de los otros eventos proteolíticos son catalizados por la enzima convertidora de angiotensina 1 (ACE) 1, o ACE2. Se muestran los receptores unidos por las diferentes formas de Ang, así como los resultados fisiológicos de la unión a receptor (abajo).

En algunas especies, la angiotensina II se convierte en el heptapéptido angiotensina III (figura 41-14), un estimulador igual de potente de la producción de aldosterona. En seres humanos, la concentración plasmática de angiotensina II es cuatro veces mayor que la de angiotensina III, de modo que el octapéptido ejerce la mayor parte de los efectos. Las angiotensinasas inactivan con rapidez a las angiotensinas II y III.

La angiotensina II se une a receptores de células de la glomerulosa de la corteza suprarrenal específicos. La interacción hormona-receptor no activa a la adenilil ciclasa, y el cAMP no parece mediar la acción de esta hormona. Las acciones de la angiotensina II, que estimulan la conversión de colesterol en pregnenolona y de corticosterona en 18-hidroxicorticosterona y aldosterona, pueden incluir cambios de las cifras de calcio intracelular y de los metabolitos fosfolípidos por medio de mecanismos similares a los descritos en el capítulo 42.

Procesamiento complejo genera la familia de péptidos pro-opiomelanocortina (POMC)

La familia POMC consta de péptidos que actúan como hormonas (ACTH, LPH, MSH) y otros que pueden servir como neuro-

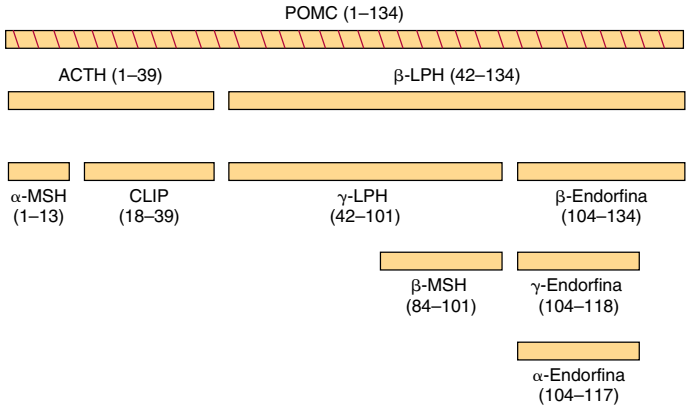


FIGURA 41-15 Productos de la división de pro-opiomelanocortina (POMC). (MSH, hormona estimulante de melanocito; CLIP, péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina; LPH, lipotropina).

transmisores o neuromoduladores (endorfinas) (**figura 41-15**). La POMC se sintetiza como una molécula precursora de 285 aminoácidos, y se procesa de manera diferente en diversas regiones de la hipófisis.

El gen que codifica para POMC se expresa en los lóbulos anterior e intermedio de la hipófisis. Las secuencias más conservadas entre las especies están dentro del fragmento amino terminal, la región de ACTH y la región de la β-endorfina. La POMC o productos vinculados se encuentran en varios otros tejidos de vertebrado, entre ellos el cerebro, la placenta, el tubo digestivo, vías reproductoras, pulmones y linfocitos.

La proteína POMC se procesa de modo diferente en el lóbulo anterior que en el lóbulo intermedio de la hipófisis; este último es rudimentario en seres humanos adultos, pero es activo en fetos humanos y en embarazadas durante las etapas tardías del embarazo, y es también activo en muchas especies de animales. El procesamiento de la proteína POMC en los tejidos periféricos (intestino, placenta, vías reproductoras masculinas) semeja el que sucede en el lóbulo intermedio. Hay tres grupos peptídicos básicos: 1) ACTH, que da lugar a α-MSH y péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina (CLIP); 2) β-lipotropina (β-LPH), que puede dar γ-LPH, β-MSH y β-endorfina (y, de esta manera, α-endorfina y γ-endorfina), y 3) un péptido amino terminal grande, que genera γ-MSH (que no se muestra). La diversidad de estos productos se debe a las muchas agrupaciones aminoácido dibásicas que son sitios de división potenciales para enzimas parecidas a tripsina. Cada uno de los péptidos mencionados va precedido por residuos Lis-Arg, Arg-Lis, Arg-Arg o Lis-Lis. Luego de que el segmento prohormona se divide, la siguiente división, en los lóbulos tanto anterior como intermedio, es entre la ACTH y β-LPH, lo que da por resultado un péptido amino terminal con un segmento ACTH y uno β-LPH (figura 41-15). La $ACTH_{1\text{-}39}$ después se divide del péptido amino terminal, y en el lóbulo anterior en esencia no ocurren más divisiones. En el lóbulo intermedio, la $ACTH_{1\text{-}39}$ se divide hacia α-MSH (residuos 1-13) y CLIP (18-39); la β-LPH (42-134) se convierte en γ-LPH (42-101) y β-endorfina (104-134). La β-MSH (84-101) se deriva de la γ-LPH, mientras que la γ-MSH (50-74) se deriva de un fragmento POMC *N*-terminal (1-74).

Hay extensas modificaciones específicas para tejido adicionales de estos péptidos, que afectan la actividad. Estas modificaciones comprenden fosforilación, acetilación, glucosilación y amidación.

Las mutaciones del receptor α-MSH están enlazadas a una forma de obesidad de inicio temprano, frecuente. Esta observación ha redirigido la atención hacia las hormonas peptídicas POMC.

HAY VARIACIÓN DEL ALMACENAMIENTO Y LA SECRECIÓN DE HORMONAS

Como ya se mencionó, las hormonas esteroides y el 1,25(OH)-D_3 se sintetizan en su forma activa final. También son secretadas a medida que se sintetizan y, de este modo, no hay reservorio intracelular de estas hormonas. Las catecolaminas, que también se sintetizan en forma activa, se almacenan en gránulos en las células cromafines de la médula suprarrenal. En respuesta a estimulación neural apropiada, estos gránulos se liberan desde la célula mediante exocitosis y las catecolaminas se liberan hacia la circulación. Las células cromafines tienen una reserva de catecolaminas para varias horas.

Asimismo, la hormona paratiroidea existe en vesículas de almacenamiento. Hasta 80 a 90% de la pro PTH sintetizada se degrada antes de entrar en su compartimiento de almacenamiento final, en particular cuando las concentraciones de Ca^{2+} son altas en la célula paratiroidea (véase antes). La PTH se secreta cuando el Ca^{2+} es bajo en las células paratiroideas, que contienen una reserva de la hormona para varias horas.

El páncreas del humano secreta alrededor de 40 a 50 unidades de insulina a diario; esto representa entre 15 a 20% de la hormona almacenada en las células β. La insulina y el péptido C (figura 41-12) normalmente se secretan en cantidades equimolares. Por ende, estímulos como la glucosa, que desencadena la secreción de insulina, activan el procesamiento de proinsulina hacia insulina como una parte esencial de la respuesta secretoria.

Existe una reserva de T_3 y T_4 para varias semanas en la tiroglobulina que está almacenada en coloide en la luz de los folículos tiroideos. Estas hormonas pueden liberarse en el momento de estimulación por TSH. Éste es el ejemplo más exagerado de una prohormona, puesto que primero se debe sintetizar una molécula que contiene alrededor de 5 000 aminoácidos, y luego degradar, para aportar algunas moléculas de las hormonas activas T_4 y T_3.

El **cuadro 41-5** ilustra la diversidad del almacenamiento y la secreción de hormonas.

CUADRO 41-5 Diversidad en el almacenamiento de hormonas

Hormona	Reserva almacenada en la célula
Esteroides y 1,25$(OH)_2$-D_3	Ninguno
Catecolaminas y PTH	Horas
Insulina	Días
T_3 y T_4	Semanas

ALGUNAS HORMONAS TIENEN PROTEÍNAS DE TRANSPORTE EN EL PLASMA

Las hormonas clase I son de naturaleza química hidrofóbica y, así, no son muy solubles en el plasma. Estas hormonas, principalmente los esteroides y las hormonas tiroideas, tienen proteínas de transporte en el plasma especializadas que desempeñan varias funciones. En primer lugar, estas proteínas sortean el problema de solubilidad y, de esta manera, suministran la hormona a la célula blanco. También proporcionan un reservorio circulante de la hormona que puede ser considerable, como sucede con las hormonas tiroideas. Las hormonas, cuando están unidas a las proteínas de transporte, no se pueden metabolizar, lo que prolonga su vida media plasmática ($t_{½}$). La afinidad de unión de una hormona dada a su transportador determina la proporción de hormona unida en contraposición con libre. Esto es importante porque sólo la forma libre de una hormona tiene actividad biológica. En general, las cifras de hormona libre en el plasma son muy bajas, dentro del rango de 10^{-15} a 10^{-9} mol/L. Tiene importancia distinguir entre proteínas de transporte en el plasma y receptores de hormona. Ambos se unen a hormonas, pero con características muy diferentes (**cuadro 41-6**).

Las hormonas hidrofílicas (por lo regular clase II y de estructura peptídica) son libremente solubles en el plasma y no necesitan proteínas de transporte. Las hormonas como la insulina, GH, ACTH y TSH, circulan en la forma libre, activa, y tienen vida media plasmática muy breve. Una notable excepción es el IGF-1, que se transporta unido a miembros de una familia de proteínas de unión.

Las hormonas tiroideas se transportan por medio de la globulina de unión a tiroxina

Muchos de los principios antes comentados se ilustran en una exposición acerca de las proteínas de unión a tiroxina. La mitad a dos terceras partes de la T_4 y la T_3 en el organismo se encuentran en un reservorio extratiroideo. La mayor parte de esto circula en forma unida, es decir, unida a una proteína de unión específica, la **globulina de unión a tiroxina (TBG)**. La TBG, una glucoproteína con una masa molecular de 50 kDa, se une a T_4 y T_3, y tiene la capacidad para unir 20 µg/dL de plasma. En circunstancias normales, la TBG une (de modo no covalente) casi toda la T_4 y T_3 en el plasma, y se une a T_4 con mayor afinidad que a T_3 (**cuadro 41-7**). La vida media plasmática de T_4 es correspondientemente 4 a 5 veces la de la T_3. La actividad biológica depende de la pequeña fracción no unida (libre). De esta manera, a pesar de la gran diferencia de la cantidad total, la fracción libre de T_3 se aproxima a la de T_4, y dado que T_3 es intrínsecamente más activa que T_4, casi toda la actividad biológica se atribuye a T_3. La TBG no se une a cualquier otra hormona.

CUADRO 41-7 Comparación de T_4 y T_3 en el plasma

	Hormona total (µg/dL)	Hormona libre: Porcentaje del total	Hormona libre: ng/dL	Hormona libre: Molaridad	$T_{½}$ en la sangre (días)
T_4	8	0.03	~2.24	3.0×10^{-11}	6.5
T_3	0.15	0.3	~0.4	0.6×10^{-11}	1.5

Los glucocorticoides se transportan mediante globulina de unión a corticosteroide (CBG)

La hidrocortisona (cortisol) también circula en el plasma en formas unida a proteína y libre. La principal proteína de unión en el plasma es una α-globulina llamada **transcortina,** o **CBG**. La CBG se produce en el hígado, y los estrógenos incrementan su síntesis, al igual que la de TBG. La CBG se une a la mayor parte de la hormona cuando las concentraciones plasmáticas de cortisol están dentro del límite normal; cantidades considerablemente menores de cortisol están unidas a albúmina. La avidez de unión ayuda a determinar la vida media biológica de diversos glucocorticoides. El cortisol se une de modo estrecho a la CBG, y tiene una $t_{½}$ de 1.5 a 2 horas, mientras que la corticosterona, que se une de manera menos estrecha, tiene una $t_{½}$ de menos de 1 hora (**cuadro 41-8**). El cortisol no unido (libre) constituye alrededor de 8% del total y representa la fracción que tiene actividad biológica. La unión a CBG no se restringe a glucocorticoides. La desoxicorticosterona y la progesterona interactúan con la CBG con suficiente afinidad como para competir por la unión a cortisol. La aldosterona, el mineralocorticoide natural más potente, carece de una proteína de transporte específica en el plasma. Los esteroides gonadales se unen de modo muy débil a la CBG (cuadro 41-8).

CUADRO 41-6 Comparación de receptores con proteínas de transporte

Característica	Receptores	Proteínas de transporte
Concentración	Muy baja (miles/célula)	Muy alta (miles de millones/µL)
Afinidad de unión (K_d)	Alta (rango de pmol/L a nmol/L)	Baja (rango de µmol/L)
Especificidad de unión	Muy alta	Baja
Saturabilidad	Sí	No
Reversibilidad	Sí	Sí
Transducción de señal	Sí	No

CUADRO 41-8 Afinidades aproximadas de los esteroides para proteínas de unión séricas

	SHBG[a]	CBG[a]
Dihidrotestosterona	1	>100
Testosterona	2	>100
Estradiol	5	>10
Estrona	>10	>100
Progesterona	>100	~2
Cortisol	>100	~3
Corticosterona	>100	~5

[a] Afinidad expresada como K_d (nmol/L).

Los esteroides gonadales se transportan por medio de la globulina de unión a hormona sexual

Casi todos los mamíferos, incluidos los seres humanos, tienen una β-globulina plasmática que se une a la testosterona con especificidad, afinidad relativamente alta y capacidad limitada (cuadro 41-8). Esta proteína, por lo general denominada **globulina de unión a hormona sexual (SHBG)** o globulina de unión a testosterona-estrógeno (TEBG), se produce en el hígado. Su síntesis aumenta por los estrógenos (las mujeres tienen cifra sérica de SHBG dos veces mayor que los varones), ciertos tipos de enfermedad del hígado e hipertiroidismo, y se aminora por andrógenos, edad avanzada e hipotiroidismo. Muchos de estos estados o enfermedades también afectan la producción de CBG y TBG. Puesto que la SHBG y la albúmina se unen a 97 a 99% de la testosterona circulante, sólo una pequeña fracción de la hormona en la circulación se encuentra en la forma libre (que tiene actividad biológica). La función primaria de la SHBG tal vez sea restringir la concentración de testosterona libre en el suero. La testosterona se une a la SHBG con mayor afinidad que el estradiol (cuadro 41-8). Por consiguiente, un cambio de la cifras de SHBG suscita un mayor cambio de la concentración de testosterona libre que de la de estradiol libre.

Los estrógenos se unen a la SHBG, y las progestinas a la CBG. La SHBG se une al estradiol con avidez unas cinco veces menor que a la testosterona o a la DHT, mientras que la progesterona y el cortisol tienen poca afinidad por esta proteína (cuadro 41-8). En contraste, la progesterona y el cortisol se unen con afinidad casi igual a la CBG que, a su vez, tiene poca avidez por el estradiol, y avidez aún menor por la testosterona, DHT o estrona.

Tales proteínas de unión también proporcionan un reservorio circulante de hormona y debido a la capacidad de unión relativamente grande, probablemente amortiguan contra cambios repentinos de la concentración plasmática. Dado que los índices de depuración metabólica de estos esteroides guardan relación inversa con la afinidad de su unión a SHBG, la estrona se depura con mayor rapidez que el estradiol, que a su vez se depura más rápido que la testosterona o la DHT.

RESUMEN

- La presencia de un receptor específico define las células blanco para una hormona dada.
- Los receptores son proteínas que se unen a hormonas específicas y generan una señal intracelular (acoplamiento receptor-efector).
- Algunas hormonas tienen receptores intracelulares; otras se unen a receptores en la membrana plasmática.
- Las hormonas se sintetizan a partir de varias moléculas precursoras, entre ellas colesterol, tirosina en sí, y todos los aminoácidos que constituyen péptidos y proteínas.
- Varios procesos de modificación alteran la actividad de las hormonas. Por ejemplo, muchas hormonas se sintetizan a partir de moléculas precursoras de mayor tamaño.
- La totalidad de enzimas en un tipo de célula particular permite la producción de una clase específica de hormona esteroide.
- Casi todas las hormonas solubles en lípido están unidas a proteínas de transporte en el plasma más bien específicas.

REFERENCIAS

Bain DL, Heneghan AF, Connaghan-Jones KD, *et al*: Nuclear receptor structure: implications for function. Ann Rev Physiol 2007;69:201.

Bartalina L: Thyroid hormone-binding proteins: update 1994. Endocr Rev 1994;13:140.

Cheung E, Kraus WL: Genomic analyses of hormone signaling and gene regulation. Annu Rev Physiol 2010;72:191-218.

Cho YM, Fujita Y, Kieffer TJ: Glucagon-like peptide-1: glucose homeostasis and beyond. Annu Rev Physiol 2014;76:535-559.

Cristina Casals-Casas C, Desvergne B: Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. Annu Rev Physiol 2011;73:23.135-162.

Dai G, Carrasco L, Carrasco N: Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. Nature 1996;379:458.

DeLuca HR: The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. FASEB J 1988;2:224.

Douglass J, Civelli O, Herbert E: Polyprotein gene expression: generation of diversity of neuroendocrine peptides. Annu Rev Biochem 1984;53:665.

Farooqi IS, O'Rahilly S: Monogenic obesity in humans. Ann Rev Med 2005;56:443.

Fan W, Atkins AR, Yu RT, *et al*: Road to exercise mimetics: targeting nuclear receptor in skeletal muscle. J Mol Endocrinol 2013;51:T87-T100.

Mazziotti G, Giustina A: Glucocorticoids and the regulation of growth hormone secretion. Nat Rev Endocrinol 2013;9:265-276.

Miller WL: Molecular biology of steroid hormone biosynthesis. Endocr Rev 1988;9:295.

Nagatsu T: Genes for human catecholamine-synthesizing enzymes. Neurosci Res 1991;12:315.

Russell DW, Wilson JD: Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. Annu Rev Biochem 1994;63:25.

Russell J, Bar A, Sherwood LM, *et al*: Interaction between calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in the regulation of preproparathyroid hormone and vitamin D_3 receptor mRNA in avian parathyroids. Endocrinology 1993;132:2639.

Steiner DF, Smeekens SP, Ohagi S, *et al*: The new enzymology of precursor processing endoproteases. J Biol Chem 1992;267:23435.

Taguchi A, White M: Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. Ann Rev Physiol 2008;70:191.

CAPÍTULO

42

Acción hormonal y transducción de señal

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar las implicaciones de estímulos, liberación de hormona, generación de señal y respuesta efectora en diversos procesos fisiológicos regulados por hormona.
- Explicar la función de receptores y de proteínas G de unión a GTP en la transducción de señal de hormona, particularmente respecto a la generación de segundos mensajeros.
- Apreciar los patrones complejos de la comunicación recíproca de vía de transducción de señal en la mediación de salidas fisiológicas complicadas.
- Entender las funciones clave que desempeñan las interacciones entre proteína y ligando, y entre proteína y proteína; la modificación postraduccional de proteína (p. ej., fosforilación y acetilación), y las interacciones entre proteína y DNA, en la mediación de procesos fisiológicos dirigidos por hormona.
- Apreciar que los receptores modulados por hormona, segundos mensajeros y moléculas emisoras de señal asociadas representan una rica fuente de desarrollo de blancos farmacológicos potenciales, dados sus papeles clave en la regulación de la fisiología.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las adaptaciones homeostáticas que un organismo hace a un ambiente en cambio constante se logran en gran parte por medio de alteraciones de la actividad y la cantidad de proteínas. Las hormonas proporcionan un importante medio para facilitar estos cambios. Una interacción entre hormona y receptor da por resultado la generación de una señal intracelular capaz de regular la actividad de un grupo selecto de genes, lo que altera la cantidad de ciertas proteínas en la célula blanco, o afecta la actividad de proteínas específicas, entre ellas enzimas y proteínas transportadoras o canal. La señal puede influir sobre la localización de proteínas en la célula, y afectar procesos generales como la síntesis de proteína, el crecimiento celular, y la replicación, quizá mediante efectos sobre la expresión de gen. Otras moléculas emisoras de señal (entre ellas citocinas, interleucinas, factores de crecimiento y metabolitos) usan algunos de los mismos mecanismos generales y vías de transducción de señal. La producción y liberación excesiva, deficiente o inapropiada de hormonas y de estas otras moléculas reguladoras son causas importantes de enfermedad. Muchos agentes farmacoterápicos se dirigen a corregir las vías que se comentan en este capítulo o por lo demás influir sobre las mismas.

LAS HORMONAS TRANSDUCEN SEÑALES PARA AFECTAR MECANISMOS HOMEOSTÁTICOS

La **figura 42-1** ilustra los pasos generales incluidos en la producción de una respuesta coordinada a un estímulo particular. El estímulo puede ser un desafío o una amenaza para el organismo, para un órgano, o para la integridad de una célula única dentro de ese organismo. El reconocimiento del estímulo es el primer paso en la respuesta adaptativa. En el ámbito de organismo, esto por lo general involucra el sistema nervioso y los sentidos especiales (vista, audición, dolor, olfato, tacto). En el ámbito de organismo o célula, el reconocimiento comprende factores físico-químicos como pH, tensión de O_2, temperatura, aporte de nutriente, metabolitos nocivos y osmolaridad. El reconocimiento apropiado origina la liberación de una o más hormonas que regirán la generación de la respuesta adaptativa necesaria. Para propósitos de esta exposición, las hormonas se clasifican como se describió en el cuadro 41-4, es decir, con base en la localización de sus receptores celulares específicos y el tipo de señales generadas. Las hormonas del grupo I interactúan con un receptor intracelular, y las del grupo II, con sitios de reconocimiento de receptor

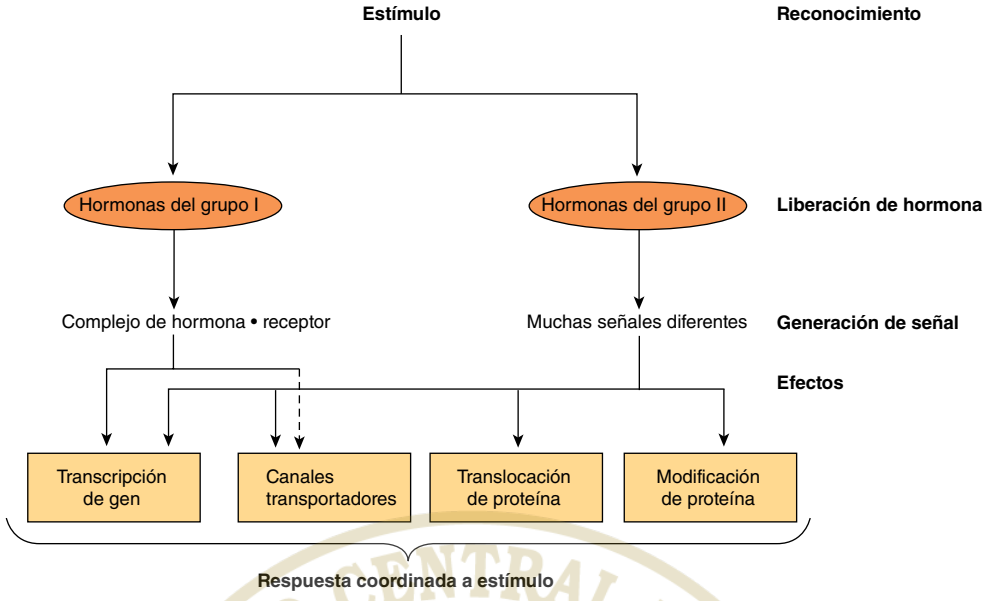


FIGURA 42-1 Participación hormonal en respuestas a un estímulo. Un desafío para la integridad del organismo desencadena una respuesta que incluye la liberación de una o más hormonas. Estas hormonas generan señales en células blanco o dentro de las mismas, y estas señales regulan diversos procesos biológicos que proporcionan una respuesta coordinada al estímulo o desafío. Véase un ejemplo específico en la figura 42-8.

localizados en la superficie extracelular de la membrana plasmática de las células blanco. Las citocinas, interleucinas y factores de crecimiento también deben considerarse en esta última categoría. Estas moléculas, de importancia crucial en la adaptación homeostática, son hormonas en el sentido de que se producen en células específicas; tienen el equivalente de acciones autocrina, paracrina y endocrina; se unen a receptores de superficie celular, y activan muchas de las mismas vías de transducción de señal empleadas por las hormonas del grupo II más tradicionales.

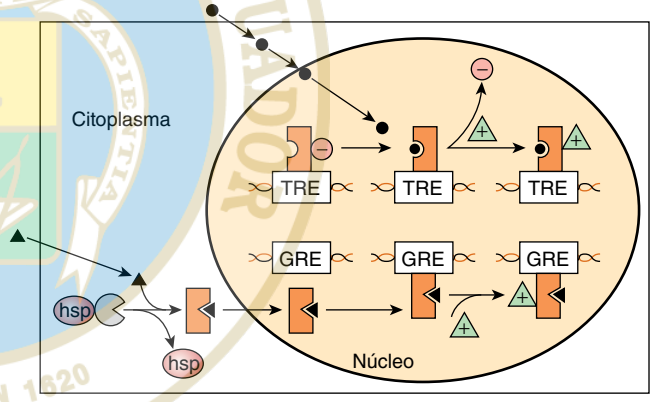


FIGURA 42-2 Regulación de la expresión de gen por dos hormonas clase I diferentes, la hormona tiroidea y los glucocorticoides. Las hormonas esteroides hidrofóbicas tienen fácil acceso al compartimento citoplasmático de células blanco mediante difusión a través de la membrana plasmática. Las hormonas glucocorticoides (triángulos negros) encuentran su receptor cognado (GR) en el citoplasma, donde el GR existe en un complejo con proteína de choque por calor 90 (hsp). La unión a ligando causa disociación de hsp y un cambio conformacional del receptor. El complejo de receptor-ligando a continuación cruza la membrana nuclear y se une al DNA con especificidad, y con afinidad alta, en un elemento de respuesta a glucocorticoide (GRE). Este evento afecta la estructura de varios correguladores de transcripción (triángulos verdes), y el resultado es transcripción aumentada. En contraste, las hormonas tiroideas y el ácido retinoico (círculos negros [•]) entran directamente al núcleo, donde los receptores heterodiméricos cognados (TR-RXR; figura 42-12) ya están unidos a los elementos de respuesta apropiados con un complejo represor de transcripción asociado (círculos rojos). Ocurre unión de hormona-receptor, que de nuevo induce cambios conformacionales en el receptor, lo que lleva a una reorganización de interacciones entre receptor (TR) y corregulador (es decir, moléculas como N-CoR o SMRT [cuadro 42-6]). La unión a ligando da por resultado disociación del complejo represor desde el receptor, lo que permite que se monte un complejo activador, que consta del TR-TRE y coactivador. A continuación el gen es transcrito de manera activa.

GENERACIÓN DE SEÑAL

El complejo de ligando-receptor es la señal para las hormonas del grupo I

Las hormonas del grupo I lipofílicas se difunden a través de la membrana plasmática de todas las células, pero sólo encuentran sus receptores intracelulares específicos, de alta afinidad, en células blanco. Estos receptores pueden estar ubicados en el citoplasma o en el núcleo de células blanco. El complejo de hormona-receptor primero pasa por una **reacción de activación**. El receptor se activa por medio de al menos dos mecanismos (**figura 42-2**); por ejemplo, los glucocorticoides se difunden a través de la membrana plasmática y encuentran su receptor cognado en el citoplasma de las células blanco. La unión de ligando y receptor causa un cambio de conformación en el receptor que conduce a la disociación de la proteína de choque por calor 90 (hsp90); este paso parece ser necesario para la localización nuclear subsiguiente del receptor de glucocorticoide. Asimismo, este receptor contiene una secuencia de localización nuclear que ahora está libre para ayudar en la translocación desde el citoplasma hacia el núcleo. El receptor activado se mueve hacia el núcleo (figura 42-2), y se une con alta afinidad a una secuencia de DNA

CUADRO 42-1 Las secuencias de DNA de varios elementos de respuesta a hormona (HRE)[a]

Hormona o efector	HRE	Secuencia de DNA
Glucocorticoides	GRE	GGTACA NNN TGTTCT ⟵ ⟶
Progestinas	PRE	
Mineralocorticoides	MRE	
Andrógenos	ARE	
Estrógenos	ERE	AGGTCA — TGACCT ⟵ ⟶
Hormona tiroidea	TRE	AGGTCA N1-5 AGGTCA ⟶ ⟶
Ácido retinoico	RARE	
Vitamina D	VDRE	
cAMP	CRE	TGACGTCA

[a] Las letras indican nucleótido. N significa que cualquiera de los cuatro puede usarse en esa posición. Las flechas que apuntan en direcciones opuestas ilustran los palíndromos invertidos un poco imperfectos presentes en muchos HRE; en algunos casos éstos se llaman "medios sitios de unión" porque cada uno se une a un monómero del receptor. El GRE, PRE, MRE y ARE constan de la misma secuencia de DNA. La especificidad puede conferirse por la concentración intracelular del ligando o el receptor de hormona, por secuencias de DNA flanqueantes no incluidas en el consenso, o por otros elementos accesorios. Un segundo grupo HRE comprende los destinados a hormonas tiroideas, estrógenos, ácido retinoico y vitamina D. Estos HRE son similares excepto por la orientación y el espaciamiento entre los medios palíndromos. El espaciamiento determina la especificidad para hormona. VDRE ($N = 3$), TRE ($N = 4$) y RARE ($N = 5$) se unen a repeticiones directas más que a repeticiones invertidas. Otro miembro de la subfamilia de receptor de esteroide, el receptor X retinoide (RXR), forma heterodímeros con VDR, TR, y RARE, y éstos constituyen las formas funcionales de estos factores de acción *trans*. El cAMP afecta la transcripción de gen por medio del CRE.

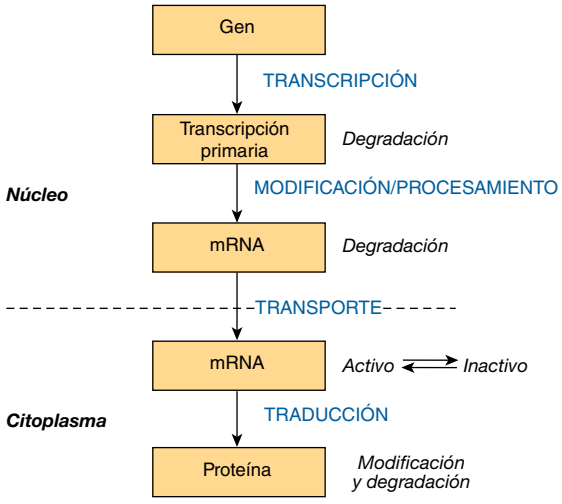


FIGURA 42-3 La "vía de la información". La información fluye desde el gen hacia la transcripción primaria, hacia mRNA, y hacia proteína. Las hormonas pueden afectar cualquiera de los pasos comprendidos, y los índices de procesamiento, degradación o modificación de los diversos productos.

específica denominada el **elemento de respuesta a hormona (HRE)**. En el caso ilustrado, éste es un elemento de respuesta a glucocorticoide (GRE). El **cuadro 42-1** muestra secuencias de consenso para HRE. El receptor unido a DNA, con ligando, sirve como un sitio de unión de alta afinidad para una o más proteínas coactivadoras y cuando esto ocurre típicamente sobreviene transcripción de gen acelerada. En contraste, ciertas hormonas, como las hormonas tiroideas y los retinoides, se difunden desde el líquido extracelular a través de la membrana plasmática, y van de manera directa hacia el núcleo. En este caso, el receptor cognado ya está unido al HRE (el elemento de respuesta a hormona tiroidea [TRE], en este ejemplo); sin embargo, este receptor unido a DNA no activa transcripción porque existe en complejo con un correpresor. En realidad, este complejo de receptor-correpresor sirve como un represor activo de la transcripción de gen. La asociación de ligando con estos receptores suscita disociación del o los correpresores. El receptor con ligando ahora tiene la capacidad para unirse a uno o más coactivadores con afinidad alta, lo que produce el reclutamiento de RNA polimerasa II y el GTF, y activación de la transcripción de gen. La relación de receptores de hormona con otros receptores nucleares y con correguladores se comenta con mayor detalle más adelante.

Al afectar de modo selectivo la transcripción de gen y la producción consiguiente de mRNA blanco apropiados, se cambian las cantidades de proteínas específicas, y se influye sobre los procesos metabólicos. La influencia de cada una de estas hormonas es bastante específica; en general, una hormona dada afecta a menos de 1% de los genes, el mRNA o las proteínas en una célula blanco; a veces sólo algunos quedan afectados. Las acciones nucleares de hormonas esteroides, tiroideas y retinoides están bastante bien definidas. Casi toda la evidencia sugiere que estas hormonas ejercen su efecto dominante sobre la modulación de la transcripción de gen, pero ellas (y muchas de las hormonas de las otras clases que se comentan más adelante) pueden actuar en cualquier paso de la "vía de información" (**figura 42-3**) para controlar la expresión de gen específica y, por último, una respuesta biológica. También se han descrito las acciones directas de esteroides en el citoplasma y sobre varios organelos y membranas. De manera reciente, los microRNA han quedado implicados en la mediación de algunas de las diversas acciones de las hormonas.

LAS HORMONAS DEL GRUPO II (PÉPTIDO Y CATECOLAMINA) TIENEN RECEPTORES DE MEMBRANA Y USAN MENSAJEROS INTRACELULARES

Muchas hormonas son hidrosolubles, carecen de proteínas de transporte (y, en consecuencia, tienen una vida media plasmática breve), e inician una respuesta al unirse a un receptor ubicado en la membrana plasmática (cuadros 41-3 y 41-4). El mecanismo de acción de este grupo de hormonas es más comprensible en términos de las **señales intracelulares** que generan, las cuales incluyen **cAMP** (AMP cíclico; ácido 3′,5′-adenílico; figura 18-5), un nucleótido derivado de ATP mediante la acción de la adenililciclasa; **cGMP**, un nucleótido formado por la guanilil ciclasa; Ca^{2+}, y **fosfatidilinositidas**; esas moléculas se llaman **segundos mensajeros** dado que su síntesis es desencadenada por la presencia de la hormona primaria (molécula) que se une a su receptor. Muchos de estos segundos mensajeros afectan la transcripción de gen, como se describió en el párrafo previo, pero también influyen sobre varios otros procesos biológicos, como se muestra en la figura 42-3, vea también las figuras 42-6 y 42-8.

CUADRO 42-2 Subclasificación de las hormonas del grupo II.A

Hormonas que estimulan a la adenililciclasa (H_s)	Hormonas que inhiben a la adenililciclasa (H_i)
ACTH	Acetilcolina
ADH	α_2-adrenérgicos
β-adrenérgicos	Angiotensina II
Calcitonina	Somatostatina
CRH	
FSH	
Glucagón	
hCG	
LH	
LPH	
MSH	
PTH	
TSH	

Receptores acoplados a proteína G

Muchas de las hormonas del grupo II se unen a receptores que se acoplan a efectores por medio de una **proteína de unión a GTP (proteínas G)** intermediaria. Estos receptores de manera típica tienen siete dominios hidrofóbicos que abarcan la membrana plasmática. Esto se ilustra en la **figura 42-4** por las siete hélices interconectadas que se extienden a través de la bicapa lipídica.

Los receptores de esta clase, que emiten señales mediante intermediarios de proteína unida a nucleótido guanina, se conocen como **receptores acoplados a proteína G** o **GPCR**. Hasta la fecha, se han identificado cientos de genes que codifican para receptor enlazado a proteína G; esto representa la familia de mayor tamaño de receptores de superficie celular en seres humanos. Una amplia variedad de respuestas está mediada por GPCR.

El cAMP es la señal intracelular para muchas respuestas

El AMP cíclico fue la primera señal intracelular de segundo mensajero identificada en células de mamífero. Varios componentes comprenden un sistema para la generación, degradación y acción del cAMP (**cuadro 42-2**).

Adenililciclasa

Diferentes hormonas peptídicas pueden estimular (s) o inhibir (i) la producción de cAMP a partir de adenililciclasa por medio de la acción de las proteínas G. Estas últimas son codificadas por al menos 10 genes diferentes (**cuadro 42-3**). Dos sistemas paralelos, uno estimulador (s) y uno inhibitorio (i), convergen sobre una molécula catalítica (C). Cada uno consta de un receptor R_s o R_i, y un complejo regulador, G_s y G_i. G_s y G_i son, cada uno, **proteína G heterotrimérica compuesta de subunidades α, β y γ**. Dado que la subunidad α en G_s difiere de la que se encuentra en G_i, las proteínas, que son productos de gen separados, se designan α_s y α_i. Las subunidades α se unen a nucleótidos guanina. Las subunidades β y γ siempre están asociadas (βγ) y parecen funcionar como un heterodímero. La unión de una hormona a R_s

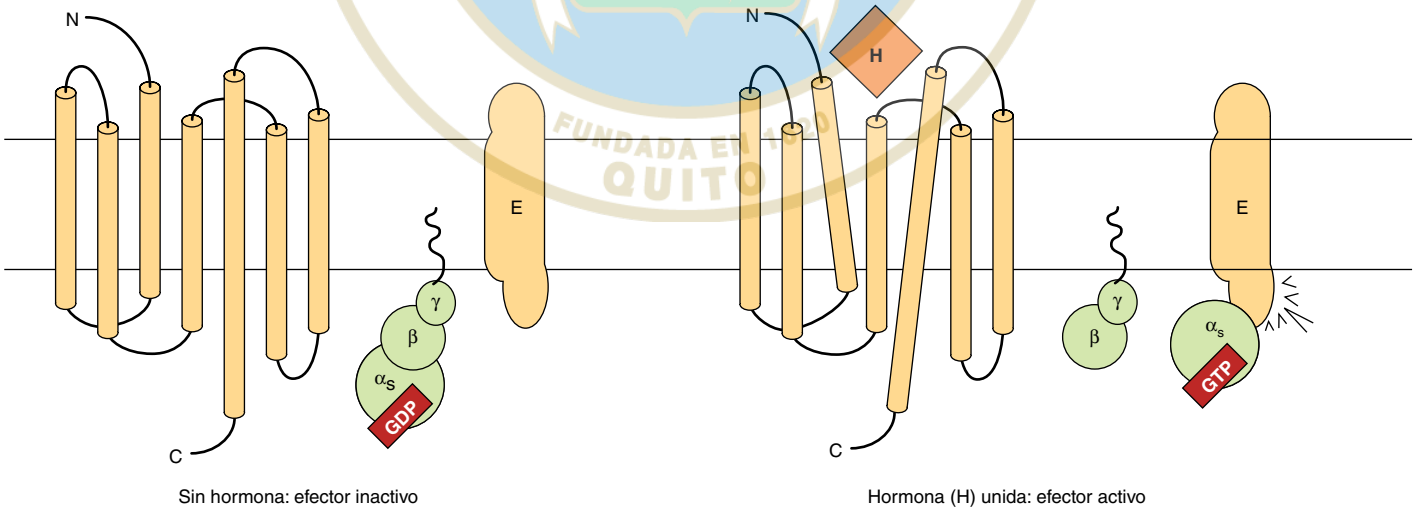


FIGURA 42-4 Componentes del sistema efector de receptor de hormona-proteína G. Los receptores que se acoplan a efectores mediante proteínas G (GPCR) típicamente tienen 7 dominios que abarcan la membrana. En ausencia de hormona (**izquierda**), el complejo de proteína G heterotrimérico (α, β, γ) se encuentra en una forma inactiva unida a guanosín difosfato (GDP), y probablemente no está asociado con el receptor. Este complejo está fijo a la membrana plasmática por medio de grupos prenilados en las subunidades βγ (**líneas onduladas**), y tal vez mediante grupos miristoilados sobre subunidades α (que no se muestran). En el momento de unión de hormona (H) al receptor, hay un cambio conformacional supuesto del receptor (según se indica por los dominios que abarcan la membrana inclinados) y activación del complejo de proteína G. Esto produce el intercambio de GDP con guanosín trifosfato (GTP) sobre la subunidad α, después de lo cual α y βγ se disocian. La subunidad α se une al efector (E) y lo activa. E puede ser adenililciclasa, canales de Ca^{2+}, Na^+ o Cl^- (α_s), o podría ser un canal de K^+ (α_i), fosfolipasa Cβ (α_q) o cGMP fosfodiesterasa (α_t); cuadro 42-3. Asimismo, la subunidad βγ puede tener acciones directas sobre E. (Modificado y reproducido, con autorización, de Granner DK en: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 2nd ed. Becker KL [editor]. Lippincott, 1995).

CUADRO 42-3 Clases y funciones de proteínas G seleccionadas[a]

Clase o tipo	Estímulo	Efector	Efecto
G_s			
α_s	Glucagón, β-adrenérgicos	↑Adenililciclasa	Gluconeogénesis, lipólisis, glucogenólisis
		↑Canales de Ca^{2+}, Cl^- y Na^+ cardíacos	Olfación
α_{olf}	Odorante	↑Adenililciclasa	
G_i			
$\alpha_{i\text{-}1,2,3}$	Acetilcolina, α_2-adrenérgicos	↓Adenililciclasa	Frecuencia cardíaca lentificada
		↑Canales de potasio	
	Colinérgicos M_2	↓Canales de calcio	
α_o	Opioides, endorfinas	↑Canales de potasio	Actividad eléctrica neuronal
α_t	Luz	↑cGMP fosfodiesterasa	Visión
G_q			
α_q	Colinérgicos M_1		
	α_1-adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β1	↓ Contracción muscular y
α_{11}	α_1-adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β2	↓ Presión arterial
G_{12}			
α_{12}	Trombina	Rho	Cambios de forma celular

[a] Las cuatro clases principales de familias de proteínas G de mamífero (G_s, G_i, G_q y G_{12}) se basan en la homología de secuencia de proteína. Se muestran los miembros representativos de cada una, junto con estímulos, efectores y efectos fisiológicos bien definidos, conocidos. Se han identificado nueve isoformas de adenililciclasa (isoformas I a IX). Todas las isoformas son estimuladas por α_s; las isoformas α_i inhiben los tipos V y VI, y α_o inhibe los tipos I y V. Se han identificado por lo menos 16 subunidades α diferentes.

Fuente: modificado y reproducido, con autorización, de Granner DK en: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 2nd ed. Becker KL (editor). Lippincott, 1995.

o R_i ocasiona una activación de G mediada por receptor, lo que implica el intercambio de GDP por GTP en α, y la disociación concomitante de βγ desde α.

La proteína α_s tiene actividad de GTPasa intrínseca. La forma activa, α_s·GTP, es inactivada en el momento de la hidrólisis del GTP hacia GDP; el complejo G_s trimérico (αβγ) a continuación vuelve a formarse y está listo para otro ciclo de activación. Las toxinas del cólera y diftérica catalizan la ADP ribosilación de α_s y α_{i-2} (**cuadro 42-3**), respectivamente. En el caso de α_s, esta modificación altera la actividad de GTPasa intrínseca; así, α_s no puede reasociarse con βγ y, por ende, se activa de manera irreversible. La ADP ribosilación de α_{i-2} evita la disociación entre α_{i-2} y βγ, y de este modo, no puede formarse la α_{i-2} libre. Por consiguiente, la actividad de α_s en esas células no tiene oposición.

Hay una familia grande de proteínas G, y éstas forman parte de la superfamilia de GTPasas. La familia de la proteína G se clasifica de acuerdo con la homología de secuencia en cuatro subfamilias (cuadro 42-3). Hay 21 genes que codifican para la subunidad α, cinco que codifican para la subunidad β y ocho que codifican para la subunidad γ. Diversas combinaciones de estas subunidades proporcionan un número grande de posibles complejos de αβγ y ciclasa.

Las subunidades α y el complejo βγ tienen acciones independientes de las que ocurren sobre la adenilil ciclasa (figura 42-4 y cuadro 42-3). Algunas formas de α_i estimulan a los canales de K^+ e inhiben a los de Ca^{2+}, y algunas moléculas de α_s tienen los efectos opuestos. Los miembros de la familia G_q activan al grupo de enzimas fosfolipasa C. Los complejos βγ se han asociado con la estimulación de canal de K^+ y la activación de fosfolipasa C. Las proteínas G participan en muchos procesos biológicos importantes además de acción hormonal. Los ejemplos notables son olfación (α_{OLF}) y visión (α_t); el cuadro 42-3 lista algunos ejemplos. Los GPCR están implicados en varias enfermedades y son blancos importantes para agentes farmacológicos.

Proteína cinasa

Como se discutió en el capítulo 38, en células procarióticas, el cAMP se une a una proteína específica denominada proteína reguladora de catabolito (CRP) que se une de manera directa al DNA e influye sobre la expresión de gen. En contraste, en células eucarióticas, el cAMP se une a una proteína cinasa llamada **proteína cinasa A (PKA)**, una molécula heterotetramérica que consta de dos subunidades reguladoras (R) que inhiben la actividad de las dos subunidades catalíticas (C) cuando se ligan como un complejo tetramérico. La unión de cAMP al tetrámero R_2C_2 se traduce en la reacción que sigue:

$$4\text{cAMP} + R_2C_2 \rightleftarrows R_2 \cdot 4\text{cAMP} + 2c$$

El complejo R_2C_2 carece de actividad enzimática, pero la unión de cAMP por R induce disociación del complejo C−R, lo que activa a este último (**figura 42-5**). La subunidad C activa cataliza la transferencia del fosfato γ del ATP hacia un residuo serina o treonina en diversas proteínas. Los sitios de fosforilación de consenso son ArgArg/Lis-X-Ser/Tre- y -Arg-Lis-X-X-Ser-, donde X puede ser cualquier aminoácido.

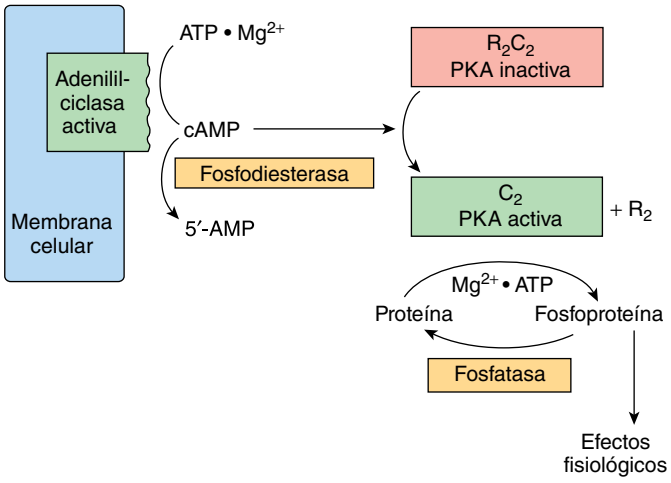


FIGURA 42-5 Regulación hormonal de procesos celulares por medio de la proteína cinasa dependiente de cAMP (PKA). La PKA existe en una forma inactiva como un heterotetrámero R_2C_2 que consta de dos subunidades reguladoras (R) y dos catalíticas (C). El cAMP generado mediante la acción de la adenililciclasa (activada como se muestra en la figura 42-4) se une a la subunidad reguladora de la PKA. Esto ocasiona la disociación de las subunidades reguladora y catalítica, y activación de esta última. Las subunidades catalíticas activas fosforilan varias proteínas blanco sobre residuos serina y treonina. Las fosfatasas eliminan fosfato de estos residuos y, así, terminan la respuesta fisiológica. Una fosfodiesterasa también puede terminar la respuesta al convertir cAMP en 5′-AMP.

Las actividades de la proteína cinasa originalmente se describieron como "dependientes de cAMP" o "independientes de cAMP". Esta clasificación ha cambiado, dado que la fosforilación de proteína ahora se reconoce como un importante mecanismo regulador. Ahora se han descrito varios cientos de proteínas cinasas. Las cinasas muestran vínculo en secuencia y estructura dentro del dominio catalítico, pero cada una tiene una molécula singular con considerable variabilidad acerca de la composición de subunidad, peso molecular, autofosforilación, K_m para ATP, y especificidad de sustrato. Las actividades tanto de cinasa como de proteína fosfatasa pueden dirigirse por medio de interacción con proteínas de unión a cinasa específicas. En el caso de la PKA, esas proteínas de dirección se denominan **proteínas fijadoras de cinasa A (AKAP)**, sirven como andamios, que localizan la PKA cerca de sustratos, lo que enfoca la actividad de PKA hacia sustratos fisiológicos y facilita la regulación biológica espaciotemporal, mientras que también permite que proteínas comunes, compartidas, desencadenen respuestas fisiológicas específicas. Se han descrito múltiples AKAP; pueden unirse a la PKA y otras cinasas, así como a fosfatasas, fosfodiesterasas (que hidrolizan el cAMP) y sustratos de proteína cinasa. La multifuncionalidad de las AKAP facilita la localización, la tasa (producción y destrucción de señales), la especificidad y la dinámica de la señalización.

Fosfoproteínas

Se cree que todos los efectos del cAMP en células eucarióticas están mediados por fosforilación-desfosforilación de proteína, de manera particular sobre residuos serina y treonina. El control de cualquiera de los efectos del cAMP, incluso procesos tan diversos como la esteroidogénesis, secreción, transporte de ion, metabolismo de carbohidrato y grasa, inducción de enzima, regulación de gen, transmisión sináptica, y crecimiento y replicación celulares, podría ser conferido por una proteína cinasa específica, por una fosfatasa específica, o por sustratos específicos para fosforilación. Estos sustratos ayudan a definir un tejido blanco, y están involucrados en la definición de la magnitud de una respuesta particular dentro de una célula dada; por ejemplo, los efectos del cAMP sobre la transcripción de gen están mediados por la **proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico (CREB)**. La CREB se une al elemento facilitador de DNA con capacidad de respuesta a cAMP (**CRE**) (cuadro 42-1) en su estado no fosforilado y es un activador débil de la transcripción. Cuando es fosforilada por PKA, la CREB se une al coactivador **proteína de unión a CREB CBP/p300** (véase más adelante) y como resultado es un activador mucho más potente de la transcripción. La CBP y la p300 relacionada contienen actividades de histona acetiltransferasa y, por tanto, sirven como correguladores transcripcionales activos de la cromatina (capítulos 36 y 38). Es interesante que la CBP/p300 también puede acetilar ciertos factores de transcripción, lo que estimula su capacidad para unirse a DNA y modular la transcripción.

Fosfodiesterasas

Las acciones producidas por hormonas que aumentan la concentración de cAMP pueden terminarse de diversos modos, entre ellos la hidrólisis de cAMP hacia 5′-AMP mediante fosfodiesterasas (figura 42-5). La presencia de estas enzimas hidrolíticas asegura un recambio veloz de la señal (cAMP) y, en consecuencia, una terminación rápida del proceso biológico una vez que se elimina el estímulo hormonal. Hay al menos 11 miembros conocidos de la familia de enzimas fosfodiesterasa, los cuales encuentran sujetos a regulación por sus sustratos, cAMP y cGMP; por hormonas, y por mensajeros intracelulares, como calcio, que probablemente actúan por medio de la calmodulina. Los inhibidores de la fosfodiesterasa, entre los que destacan los derivados de xantina metilados, como la cafeína, incrementan el cAMP intracelular e imitan o prolongan las acciones de hormonas mediante esta señal.

Fosfoproteína fosfatasas

Dada la importancia de la fosforilación de proteína, no sorprende que la regulación de la reacción de desfosforilación de proteína sea otro mecanismo de control importante (figura 42-5). Las fosfoproteína fosfatasas están sujetas por sí mismas a regulación por medio de reacciones de fosforilación-desfosforilación, y por varios otros mecanismos, como interacciones entre una proteína y otra. De hecho, la especificidad de sustrato de las fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas tal vez esté dictada por subunidades reguladoras distintas cuya unión está regulada de manera hormonal. Una de las funciones mejor estudiadas de la regulación mediante la desfosforilación de proteínas es la del metabolismo de glucógeno en el músculo (figuras 18-6 a 18-8). Se han descrito dos tipos principales de fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas. El tipo I desfosforila de preferencia la subunidad β de la fosforilasa cinasa, mientras que el tipo II desfosforila la subunidad α. La fosfatasa tipo I está implicada en la regulación de la glucógeno sintasa, fosforilasa y fosforilasa cinasa; esta fosfatasa en sí está regulada

por medio de fosforilación de algunas de sus subunidades, y estas reacciones se revierten mediante la acción de una de las fosfatasas tipo II. Además, dos inhibidores de proteína termoestables regulan la actividad de la fosfatasa tipo I. Proteínas cinasas dependientes de cAMP fosforilan y activan al inhibidor-1; el inhibidor-2, que puede ser una subunidad de la fosfatasa inactiva, también es fosforilado, posiblemente por la glucógeno sintasa cinasa-3. Asimismo, las fosfatasas que atacan la fosfotirosina tienen importancia en la transducción de señal (figura 42-8).

El cGMP también es una señal intracelular

El GMP cíclico se sintetiza a partir del GTP por medio de la enzima guanilil ciclasa, que existe en formas soluble y unida a membrana. Cada una de estas isozimas tiene propiedades fisiológicas singulares. Las atriopeptinas, una familia de péptidos producida en tejidos auriculares del corazón, originan natriuresis, vasodilatación e inhibición de la secreción de aldosterona. Estos péptidos (p. ej., factor natriurético auricular) se unen a la forma unida a membrana de la guanilil ciclasa y la activan. Esto causa un aumento del cGMP en algunos casos de hasta 50 veces y se cree que esto media los efectos mencionados. Otra evidencia enlaza al cGMP con vasodilatación. Una serie de compuestos, entre ellos nitroprusiato, nitroglicerina, óxido nítrico, nitrito de sodio y azida de sodio, suscitan relajación de músculo liso y son potentes vasodilatadores. Estos agentes incrementan el cGMP al activar la forma soluble de la guanilil ciclasa, y los inhibidores de la cGMP fosfodiesterasa (p. ej., el fármaco sildenafil [Viagra]) aumentan estas respuestas y las prolongan. El cGMP incrementado activa a la proteína cinasa dependiente de cGMP (PKG) que, a su vez, fosforila diversas proteínas del músculo liso. Es probable que esto participe en la relajación del músculo liso y en la vasodilatación.

Varias hormonas actúan mediante calcio o fosfatidilinositoles

El calcio ionizado es un importante regulador de diversos procesos celulares, entre ellos la contracción muscular, el acoplamiento entre estímulo y secreción, la cascada de coagulación de la sangre, actividad enzimática y excitabilidad de membrana. Ca^{2+} es también un mensajero intracelular de la acción de hormona.

Metabolismo del calcio

La concentración extracelular de calcio (Ca^{2+}) es de alrededor de 5 mmol/L y está controlada de modo muy rígido. Aun cuando cantidades considerables de calcio están asociadas con organelos intracelulares como las mitocondrias y el retículo endoplásmico, la concentración intracelular de calcio (Ca^{2+}) libre o ionizado es muy baja: 0.05 a 10 µmol/L. A pesar de este gradiente de concentración grande y un gradiente eléctrico transmembrana favorable, la entrada del Ca^{2+} a la célula está restringida. Se gasta una considerable cantidad de energía para asegurar que el Ca^{2+} intracelular esté controlado, puesto que un aumento prolongado del Ca^{2+} en la célula es muy tóxico. Un mecanismo de intercambio de Na^+/Ca^{2+} que tiene una capacidad alta pero afinidad baja bombea Ca^{2+} hacia afuera de las células. Asimismo, hay una bomba de Ca^{2+}/protón dependiente de ATPasa que extrude Ca^{2+} en intercambio por H^+. Esto tiene afinidad alta por el Ca^{2+}, pero capacidad baja, y probablemente se encarga del ajuste fino del Ca^{2+} citosólico. Más aún, las Ca^{2+}-ATPasas bombean Ca^{2+} desde el citosol hacia la luz del retículo endoplásmico. Hay tres maneras de cambiar el Ca^{2+} citosólico: 1) ciertas hormonas (clase II.C, cuadro 41-3), al unirse a receptores que son ellos mismos canales de Ca^{2+}, incrementan la permeabilidad de la membrana a Ca^{2+} y, de este modo, aumentan el flujo de Ca^{2+} hacia adentro. 2) Las hormonas también promueven de manera indirecta el flujo de Ca^{2+} hacia adentro al modular el potencial de membrana en la membrana plasmática. La despolarización de membrana abre canales de Ca^{2+} activados por voltaje, y permite el flujo de Ca^{2+} hacia adentro. 3) El Ca^{2+} puede movilizarse desde el retículo endoplásmico y posiblemente desde fondos comunes mitocondriales.

Una observación importante que enlaza el Ca^{2+} con la acción de hormona involucró la definición de blancos intracelulares de la acción del Ca^{2+}. El descubrimiento de un regulador de la actividad de fosfodiesterasa dependiente de Ca^{2+} proporcionó la base para un entendimiento amplio de cómo el Ca^{2+} y el cAMP interactúan dentro de las células.

Calmodulina

Es la proteína reguladora dependiente del calcio, una proteína de 17 kDa homóloga en estructura y función a la proteína muscular troponina C. La calmodulina tiene cuatro sitios de unión a Ca^{2+}, y la ocupación completa de estos sitios da pie a un notorio cambio conformacional, que permite que la calmodulina active enzimas y canales de ion. La interacción entre Ca^{2+} y calmodulina (con el cambio de actividad resultante de esta última) es similar desde el punto de vista conceptual a la unión del cAMP a PKA y la activación subsiguiente de esta molécula. La calmodulina puede ser una de muchas subunidades de proteínas complejas y participa de forma especial en la regulación de diversas cinasas y enzimas de generación y degradación de nucleótido cíclico. El **cuadro 42-4** presenta una lista parcial de las enzimas reguladas de modo directo o indirecto por el Ca^{2+}, probablemente por medio de la calmodulina.

Además de sus efectos sobre enzimas y sobre el transporte de ion, el Ca^{2+}/calmodulina regula la actividad de muchos elementos estructurales en las células. Entre ellos se incluyen el complejo de actina-miosina del músculo liso, que está bajo control β-adrenérgico, y diversos procesos mediados por microfilamento en células no contráctiles, entre ellos la motilidad celular, cambios de conformación de célula, mitosis, liberación de gránulos y endocitosis.

CUADRO 42-4 Enzimas y proteínas reguladas por calcio o calmodulina

- Adenililciclasa
- Proteínas cinasas dependientes de Ca^{2+}
- Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPasa
- Proteína cinasa dependiente de Ca^{2+}-fosfolípido
- Nucleótido cíclico fosfodiesterasa
- Algunas proteínas citoesqueléticas
- Algunos canales de ion (p. ej., canales de calcio tipo $_l$)
- Óxido nítrico sintasa
- Fosforilasa cinasa
- Fosfoproteína fosfatasa 2B
- Algunos receptores (p. ej., receptor de glutamato tipo NMDA)

El calcio es un mediador de la acción hormonal

Una función del Ca^{2+} en la acción hormonal es sugerida por la observación de que el efecto de muchas hormonas: 1) es disminuido por medios libres de Ca^{2+} o cuando el calcio intracelular se agota; 2) puede imitarse mediante agentes que incrementan el Ca^{2+} citosólico, como el ionóforo de Ca^{2+} A23187, y 3) influye sobre el flujo de calcio celular. De nuevo, la regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado por medio de la vasopresina y catecolaminas β-adrenérgicas proporciona un buen ejemplo (figuras 18-6 y 18-7).

Diversas enzimas metabólicas cruciales se regulan mediante Ca^{2+}, fosforilación, o ambos; esto incluye la glucógeno sintasa, piruvato cinasa, piruvato carboxilasa, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa y piruvato deshidrogenasa, entre otras (figura 19-1).

El metabolismo de la fosfatidilinositida afecta la acción de hormonas dependientes de Ca^{2+}

Alguna señal debe proporcionar comunicación entre el receptor de hormona en la membrana plasmática y los reservorios de Ca^{2+} intracelular. Esto se logra por medio de productos del metabolismo del fosfatidilinositol. Los receptores de superficie celular, como los receptores para acetilcolina, hormona antidiurética y catecolaminas tipo α_1 son, cuando están ocupados por sus ligandos respectivos, potentes activadores de la fosfolipasa C. La unión a receptor y la activación de fosfolipasa C están acopladas mediante las isoformas G_q (cuadro 42-3 y **figura 42-6**). La fosfolipasa C cataliza la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato hacia inositol trifosfato (IP_3) y 1,2-diacilglicerol (**figura 42-7**). El diacilglicerol (DAG) en sí tiene la capacidad para activar a la **proteína cinasa C (PKC)**, cuya actividad también depende de Ca^{2+} (figuras 21-10; 24-1, 24-2 y 55-7). El IP_3, al interactuar con un receptor intracelular específico, es un liberador eficaz de Ca^{2+} desde sitios de almacenamiento intracelulares en el retículo endoplásmico. Así, la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato lleva a la activación de PKC y promueve un aumento del Ca^{2+} citoplásmico. Asimismo, la activación de las proteínas G puede tener una acción directa sobre los canales de Ca^{2+} (figura 42-4). Los incrementos resultantes del Ca^{2+} citosólico activan cinasas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina y muchas otras enzimas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina.

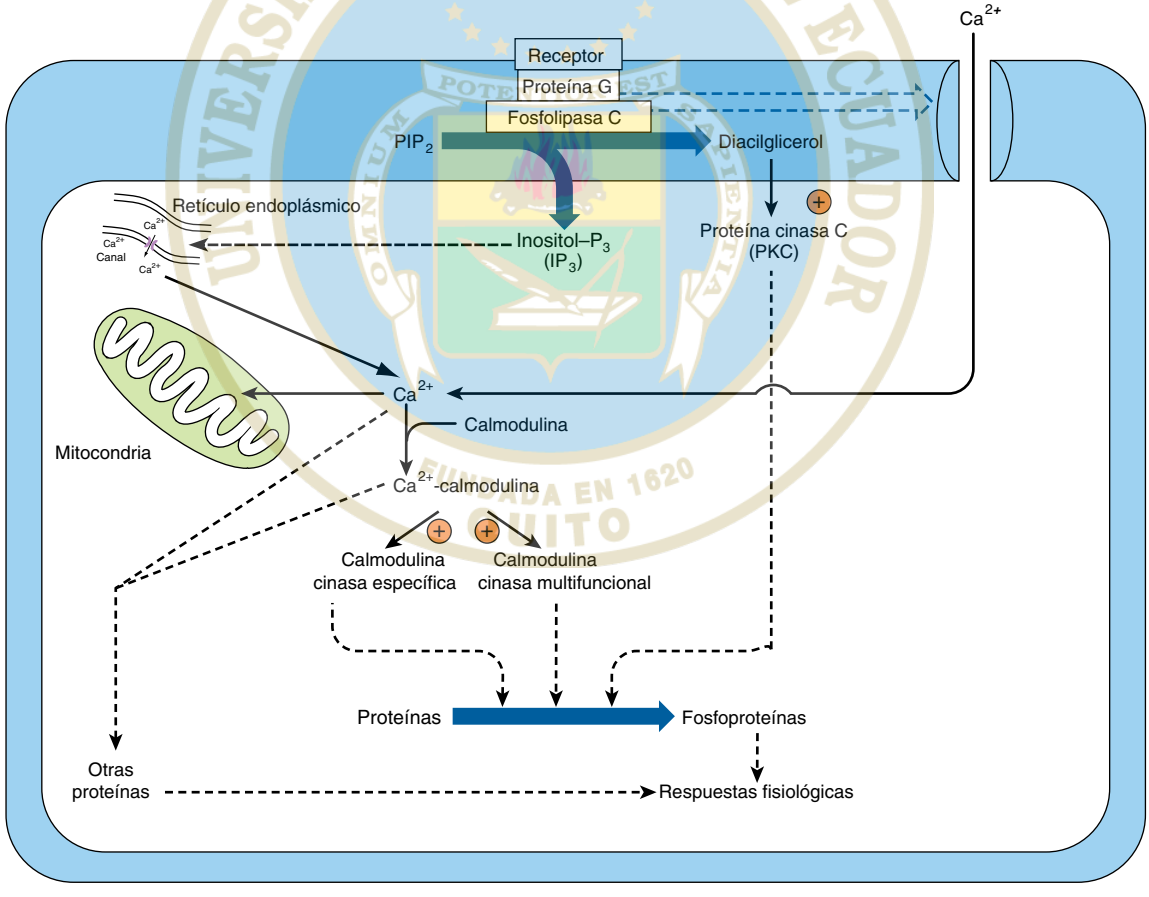


FIGURA 42-6 Ciertas interacciones entre hormona y receptor se traducen en la activación de la fosfolipasa C (PLC). Esto parece incluir una proteína G específica, que también puede activar un canal de calcio. La fosfolipasa C genera trifosfato de inositol (IP_3), que libera Ca^{2+} intracelular almacenado, y diacilglicerol (DAG), un potente activador de la proteína cinasa C (PKC). En este esquema, la PKC activada fosforila sustratos específicos, que luego alteran procesos fisiológicos. De igual manera, el complejo de Ca^{2+}-calmodulina puede activar cinasas específicas, dos de las cuales se muestran aquí. Estas acciones originan fosforilación de sustratos, y esto da pie a respuestas fisiológicas alteradas. Asimismo, esta figura muestra que el Ca^{2+} puede entrar a las células a través de canales de Ca^{2+} activados por voltaje o por ligando. El Ca^{2+} intracelular también está regulado por medio de almacenamiento y liberación por las mitocondrias y el retículo endoplásmico. (Reimpreso con permiso de JH Exton).

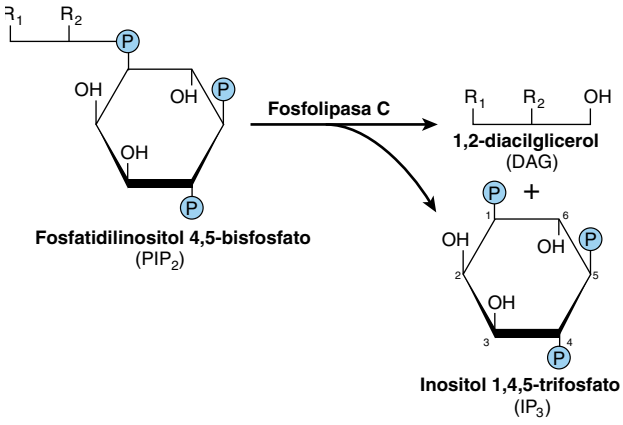


FIGURA 42-7 La fosfolipasa C divide el PIP_2 hacia diacilglicerol y trifosfato de inositol. R_1 generalmente es estearato, y R_2 por lo general es araquidonato. IP_3 se puede desfosforilar (hacia el I-1,4-P_2 inactivo) o fosforilar (hacia el I-1,3,4,5-P4 en potencia activo).

Los agentes esteroidogénicos, entre ellos ACTH y cAMP en la corteza suprarrenal; la angiotensina II, el K^+, la serotonina, ACTH y cAMP en la zona glomerulosa de las suprarrenales; la LH en los ovarios, y la LH y el cMAP en las células de Leydig de los testículos, se han relacionado con cantidades aumentadas de ácido fosfatídico, fosfatidilinositol y polifosfoinositidas (capítulo 21) en los tejidos blanco respectivos; podrían citarse varios otros ejemplos.

La figura 42-6 presenta las funciones que el Ca^{2+} y los productos de desintegración de la polifosfoinositida podrían tener en la acción hormonal. En este esquema, la proteína cinasa C activada es capaz de fosforilar sustratos específicos, que después alteran procesos fisiológicos. De igual modo, el complejo de Ca^{2+}-calmodulina puede activar cinasas específicas. Éstas a continuación modifican sustratos y, de esta manera, alteran respuestas fisiológicas.

Algunas hormonas actúan por medio de una cascada de proteína cinasa

Proteínas cinasas únicas, como PKA, PKC y Ca^{2+}-calmodulina (CaM)-cinasas, que producen fosforilación de los residuos serina y treonina en proteínas blanco, tienen una participación muy importante en la acción de hormonas. El descubrimiento de que el receptor de EGF contiene una actividad de tirosina cinasa intrínseca que es activada mediante la unión del ligando EGF, fue un avance importante. Los receptores de insulina y de IGF-1 también contienen actividad intrínseca de tirosina cinasa activada por ligando. Varios receptores (en general los que participan en la unión de ligandos involucrados en el control del crecimiento, la diferenciación y la respuesta inflamatoria) tienen actividad intrínseca de tirosina cinasa o muestran vínculo con proteínas que son tirosina cinasas. Otra característica distintiva de esta clase de acción hormonal es que estas cinasas fosforilan de preferencia residuos tirosina, y la fosforilación de tirosina es poco frecuente (< 0.03% de la fosforilación total de aminoácidos) en células de mamífero. Una tercera característica distintiva es que la interacción entre ligando y receptor que ocasiona un evento de fosforilación de tirosina inicia una cascada que puede comprender varias proteínas cinasas, fosfatasas y otras proteínas reguladoras.

La insulina transmite señales por medio de varias cascadas de cinasa

Los receptores de insulina, **factor de crecimiento epidérmico (EGF)** e **IGF-1** tienen actividades intrínsecas de proteína tirosina cinasa localizadas en sus dominios citoplásmicos. Estas actividades son estimuladas cuando el receptor se une a ligando. Los receptores a continuación se autofosforilan en residuos tirosina y esto inicia una compleja serie de eventos (que se resumen en forma simplificada en la **figura 42-8**). El receptor de insulina fosforilado a continuación fosforila **sustratos de receptor de insulina** (hay por lo menos cuatro de estas moléculas, llamadas **IRS 1 a 4**) sobre residuos tirosina. El IRS fosforilado se une a los dominios de **homología Src 2** (**SH2**) de diversas proteínas que participan de modo directo en la mediación de diferentes efectos de la insulina. Una de estas proteínas, la PI-3 cinasa, enlaza la activación del receptor de insulina con acción de insulina mediante la activación de diversas moléculas, entre ellas la cinasa dependiente de fosfoinositida-1 (**PDK1**). Esta enzima propaga la señal a través de varias otras cinasas, entre ellas **PKB** (akt) (también conocida como AKT), **SKG** y **aPKC** (véanse las definiciones y el significado de las abreviaturas en el pie de la figura 42-8). Una vía alternativa torrente abajo desde PKD1 incluye **p70S6K**, y quizás otras cinasas aún no identificadas. Una segunda vía importante comprende **mTOR**, enzima que está regulada de manera directa por las concentraciones de aminoácidos e insulina, y es esencial para la actividad de p70S6K; esta vía proporciona una distinción entre las ramas de PKB y p70S6K torrente abajo desde PKD1. Tales vías participan en la translocación de proteína, la actividad de enzima y la regulación, por medio de insulina, de genes involucrados en el metabolismo (figura 42-8). Otra proteína que contiene dominio SH2 es la **GRB2**, que se une a IRS-1 y enlaza la fosforilación de tirosina a varias proteínas, cuyo resultado es la activación de una cascada de treonina y serina cinasas. La figura 42-8 ilustra una vía que muestra cómo esta interacción entre insulina y receptor activa la vía de la proteína activada por mitógeno cinasa (**MAPK**) y los efectos anabólicos de la insulina. Quedan por establecerse las funciones precisas de muchas de estas proteínas de acoplamiento, cinasas y fosfatasas.

Hormonas y citocinas usan la vía de la Jak/STAT

La activación de tirosina cinasa también puede iniciar una cascada de fosforilación y desfosforilación que incluye la acción de varias otras proteínas cinasas y las acciones contraequilibrantes de las fosfatasas. Se emplean dos mecanismos para iniciar esta cascada. Algunas hormonas, como la hormona de crecimiento, prolactina, eritropoyetina y las citocinas, inician su acción al activar una tirosina cinasa, pero su actividad no es una parte integral del receptor de hormona. La interacción entre hormona y receptor promueve la unión y activación de **proteínas tirosina cinasas citoplásmicas**, como **Tyk-2**, **Jak1** o **Jak2**.

Dichas cinasas fosforilan una o más proteínas citoplásmicas, que luego se asocian con otras proteínas de acoplamiento mediante unión a dominios SH2. Una interacción de ese tipo se traduce en la activación de una familia de proteínas citosólicas deno-

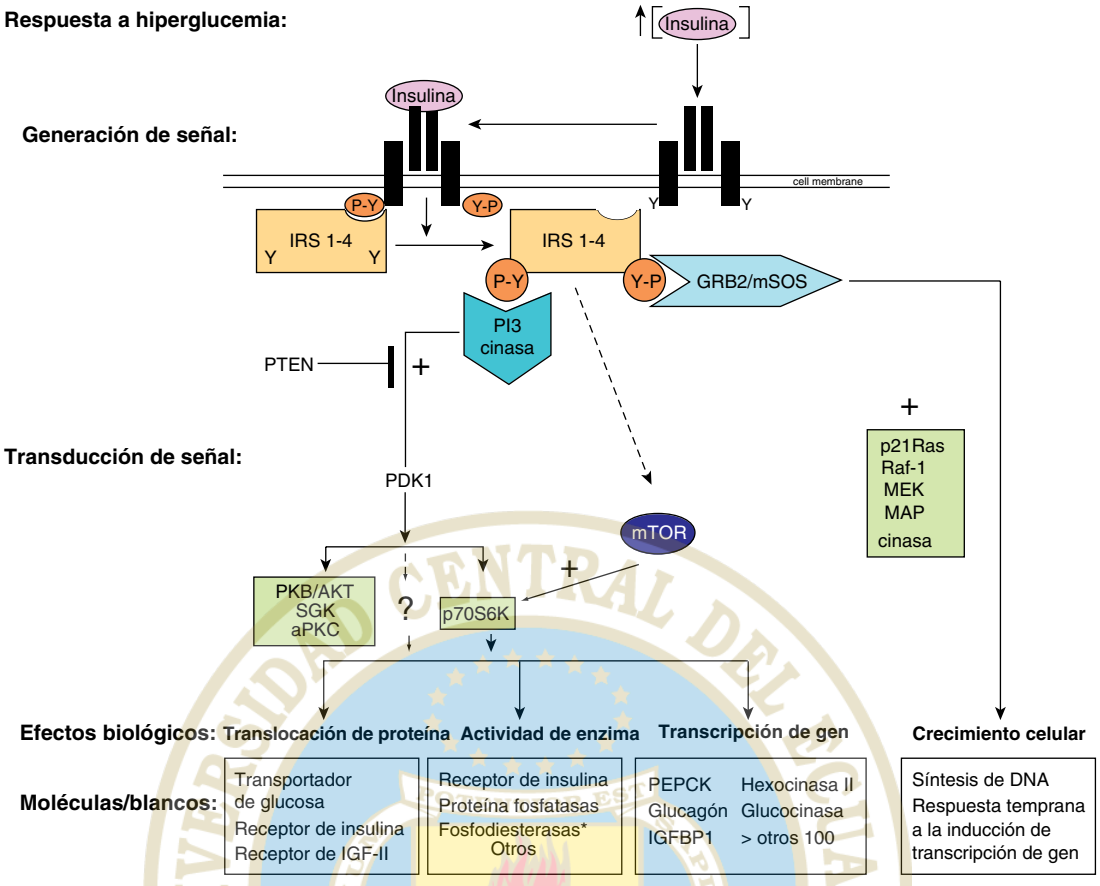


FIGURA 42-8 **Vías de señalización de insulina.** Las vías de señalización de insulina proporcionan un excelente ejemplo del paradigma "reconocimiento → liberación de hormona → generación de señal → efectos" esbozado en la figura 42-1. La insulina es liberada hacia el torrente sanguíneo desde las células β pancreáticas en respuesta a hiperglucemia. La unión de la insulina a un receptor de insulina (IR) heterotetramérico en la membrana plasmática específico para la célula blanco da lugar a una cascada de eventos intracelulares. En primer lugar, la actividad de tirosina cinasa intrínseca del receptor de insulina es activada, y marca el evento inicial. La activación de receptor da lugar a incremento de la fosforilación de tirosina (conversión de residuos Y específicos → Y-P) dentro del receptor. A continuación, una o más de las moléculas de sustrato receptor de insulina (IRS) (IRS 1-4) se unen al receptor tirosina-fosforilado y, ellas mismas son tirosina-fosforiladas de manera específica. Las proteínas IRS interactúan con el IR activado mediante dominios PH (homología de plekstrina) y PTB (unión a fosfotirosina) N terminal. Las proteínas IRS acopladas a IR son tirosina-fosforiladas, y los residuos P-Y resultantes forman los sitios de acoplamiento para varias proteínas emisoras de señales adicionales (esto es, PI-3 cinasa, GRB2 y mTOR). GRB2 y PI3K se unen a residuos P-Y de IRS por medio de sus dominios SH (homología *Src*). La unión a residuos IRS-Y-P lleva a activación de la actividad de muchas moléculas emisoras de señales intracelulares, como GTPasas, proteína cinasas y lípido cinasas, todas las cuales desempeñan papeles clave en ciertas acciones metabólicas de la insulina. Se muestran las dos vías mejor descritas. En detalle, la fosforilación de una molécula de IRS (probablemente IRS-2) da por resultado acoplamiento y activación de la lípido cinasa, PI-3 cinasa. La PI-3K genera lípidos inositol nuevos que actúan como moléculas "segundo mensajero". Éstas, a su vez, activan PDK1 y después varias moléculas emisoras de señales torrente abajo, incluso proteína cinasa B (PKB/AKT). SGK y aPKC. Una vía alternativa comprende la activación de p70S6K y quizás otras cinasas todavía no identificadas. A continuación, la fosforilación de IRS (probablemente IRS-1) da por resultado acoplamiento de GRB2/mSOS y activación de la GTPasa pequeña, p21Ras, e inicia una cascada de proteína cinasa que activa Raf-1, MEK, y las isoformas p42/p44 de MAP cinasa. Estas proteína cinasas son importantes en la regulación de la proliferación de muchos tipos de células y la diferenciación de los mismos. La vía mTOR proporciona una vía alternativa de activación de p70S6K y parece estar involucrada en la señalización de nutriente, así como en la acción de la insulina. Cada una de estas cascadas puede influir sobre procesos fisiológicos diferentes, como se muestra. Todos los eventos de fosforilación son reversibles por medio de la acción de fosfatasas específicas. Por ejemplo, la lípido fosfatasa PTEN desfosforila el producto de la reacción de la PI-3 cinasa, lo que antagoniza la vía y termina la señal. Los efectos representativos de acciones importantes de la insulina se muestran en cada uno de los recuadros. El asterisco después de la fosfodiesterasa indica que la insulina afecta de manera indirecta la actividad de muchas enzimas al activar fosfodiesterasas y reducir la concentración intracelular de cAMP. (aPKC, proteína cinasa C atípica; GRB2, proteína de unión a receptor de factor de crecimiento 2; IGFBP, proteína de unión a factor de crecimiento tipo insulina; IRS 1–4, isoformas de sustrato receptor de insulina 1-4; MAP cinasa, proteína cinasa activada por mitógeno; MEK, MAP cinasa cinasa y ERK cinasa; mSOS, *son of sevenless* de mamífero; mTOR, blanco de rapamicina de mamífero; p70S6K, proteína ribosómica p70 S6 cinasa; PDK1, cinasa dependiente de fosfoinositida; PI-3 cinasa, fosfatidilinositol 3-cinasa; PKB, proteína cinasa B; PTEN, fosfatasa y homólogo de tensina que fue objeto de deleción en el cromosoma 10; SGK, cinasa regulada por suero y glucocorticoide).

minadas transductores de señal y activadores de transcripción (**STAT**). La proteína STAT fosforilada se dimeriza y transloca hacia el núcleo, se une a un elemento de DNA específico, como el elemento de respuesta a interferón (IRE), y activa la transcripción (**figura 42-9**). Otros eventos de acoplamiento de SH2 pueden dar por resultado la activación de PI-3 cinasa, la vía de la MAP cinasa (por medio de SHC o GRB2), o activación (mediada por proteína G) de fosfolipasa C (PLCγ) con la producción acompañante de diacilglicerol y activación de la proteína cinasa C. Está claro que hay potencial de "interferencia" cuando diferentes hormonas activan estas diversas vías de transducción de señal.

La vía de NF-κB está regulada por glucocorticoides

El factor de transcripción **NF-κB** es un complejo heterodimérico típicamente compuesto de dos subunidades llamadas **p50** y **p65** (**figura 42-10**). En circunstancias normales, NF-κB se mantiene secuestrado en el citoplasma en una forma inactiva en el aspecto transcripcional por miembros de la familia de proteínas del inhibidor de NF-κB (**IκB**). Estímulos extracelulares, como citocinas proinflamatorias, especies de oxígeno reactivas, y mitógenos, conducen a la activación del **complejo de IKK** (IκB cinasa), que es una estructura heterohexamérica que consta de subunidades α, β y γ. IKK fosforila a IκB sobre dos residuos serina, y esto establece a IκB como blanco para ubiquitinación y degradación subsiguiente por el proteasoma. Después de la degradación de IκB, el NF-κB libre se transloca hacia el núcleo, donde se une a diversos promotores de gen y activa la transcripción, en particular de genes involucrados en la **respuesta inflamatoria**. La regulación transcripcional por NF-κB está mediada por diversos coactivadores, como proteína de unión a CREB (CBP), como se describe más adelante (figura 42-13).

Las **hormonas glucocorticoides** son agentes útiles desde el punto de vista terapéutico para el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias. Sus acciones antiinflamatorias e inmunorreguladoras se explican en parte por la inhibición de NF-κB y sus acciones subsiguientes. Se ha presentado evidencia de tres mecanismos para la inhibición de NF-κB por glucocorticoides: 1) los glucocorticoides incrementan el mRNA que codifica para IκB, lo que da pie a un aumento de la proteína IKB y secuestro más eficiente de NF-κB en el citoplasma. 2) El receptor de glucocorticoide compite con NF-κB para la unión a coactivadores. 3) El receptor de glucocorticoide se une de modo directo a la subunidad p65 de NF-κB, e inhibe su activación (figura 42-10).

LAS HORMONAS PUEDEN INFLUIR SOBRE EFECTOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS AL MODULAR LA TRANSCRIPCIÓN

Las señales generadas como se describió tienen que traducirse hacia una acción que permite a la célula adaptarse con eficacia a un desafío (figura 42-1). Gran parte de esta adaptación se logra mediante alteraciones de los índices de transcripción de genes específicos. Muchas observaciones diferentes han llevado a la opinión actual de cómo las hormonas afectan la transcripción. Algunas de éstas son como sigue: 1) los genes transcritos de manera activa están en regiones de cromatina "abierta" (definida experimentalmente como una susceptibilidad relativa a la enzima DNasa I), lo que permite el acceso de factores de transcripción a DNA. 2) Los genes tienen regiones reguladoras, y los factores de transcripción se unen a éstos para modular la frecuencia del inicio de transcripción. 3) El complejo de hormona y receptor puede ser uno de estos factores de transcripción. La secuencia de

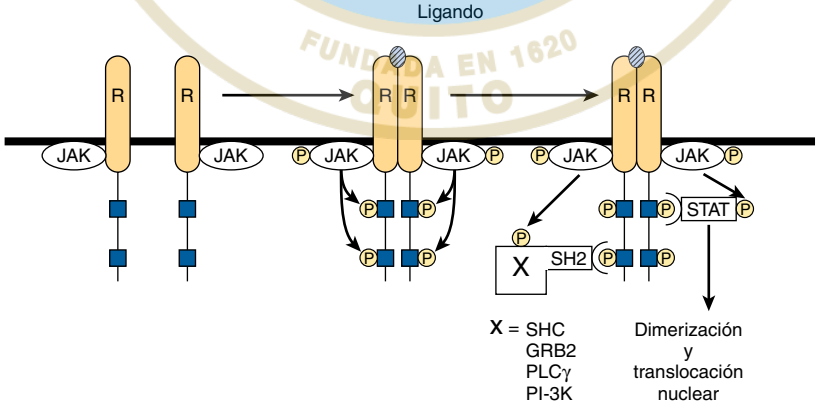


FIGURA 42-9 Inicio de transducción de señal por receptores enlazados a cinasas Jak. Los receptores (R) que se unen a la prolactina, hormona de crecimiento, interferones y citocinas carecen de tirosina cinasa endógena. En el momento de unión a ligando, estos receptores se dimerizan y una proteína asociada (Jak1, Jak2 o TYK) se fosforila. Jak-P, una cinasa activa, fosforila el receptor sobre residuos tirosina. Las proteínas STAT se asocian con el receptor fosforilado y luego son fosforiladas ellas mismas por Jak-P. STAT Ⓟ se dimeriza, se transloca hacia el núcleo, se une a elementos de DNA específicos, y regula la transcripción. Los residuos fosfotirosina del receptor también se unen a varias proteínas que contienen dominio SH2 (X-SH2). Esto se traduce en activación de la vía de la MAP cinasa (por medio de SHC o GRB2), PLCγ o PI-3 cinasa.

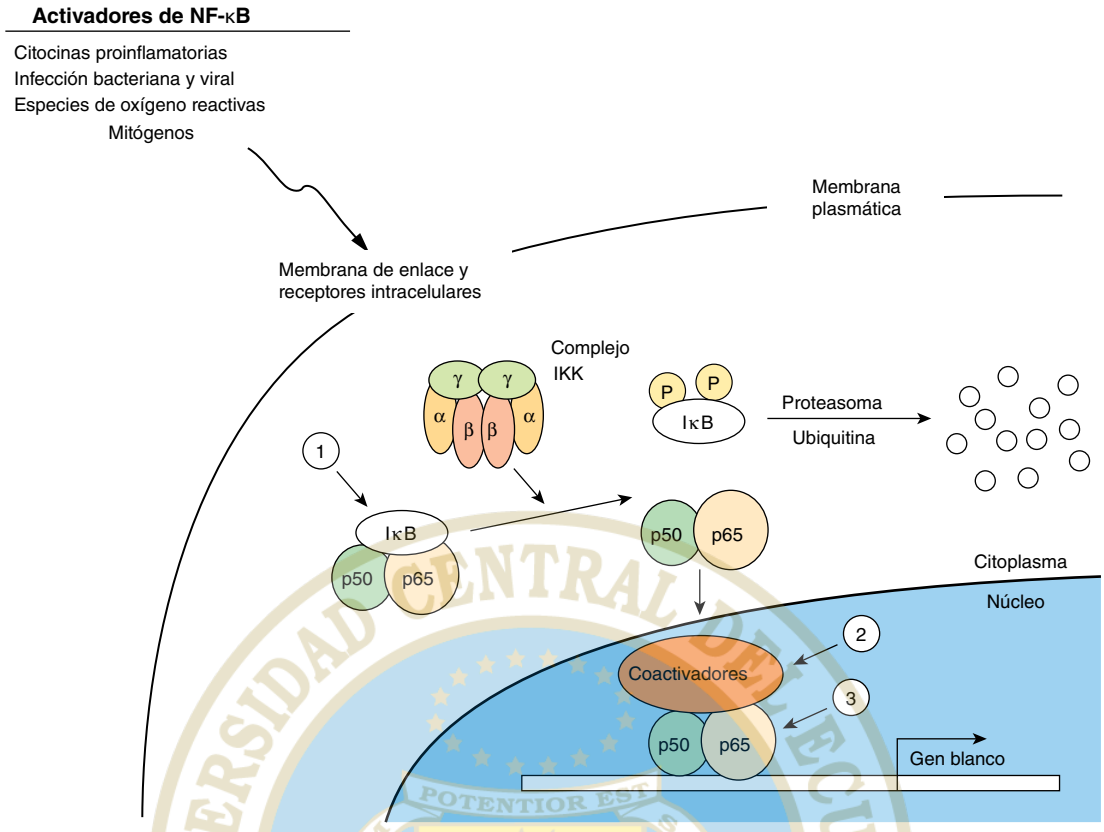


FIGURA 42-10 **Regulación de la vía del NF-κB.** El NF-κB consta de dos subunidades, p50 y p65, que cuando están presentes en el núcleo regulan la transcripción de la multitud de genes importantes para la respuesta inflamatoria. El IκB, un inhibidor de NF-κB, restringe la entrada de este último al núcleo. El IκB se une a (y enmascara) la señal de localización nuclear de NF-κB. Esta proteína citoplásmica es fosforilada mediante un complejo IKK que se activa por citocinas, especies de oxígeno reactivas y mitógenos. El IκB fosforilado se puede ubiquitinilar y degradar, lo que libera su sujeción sobre NF-κB. Se cree que los glucocorticoides, potentes antiinflamatorios, afectan al menos tres pasos en este proceso (1, 2, 3) (véase el texto).

DNA a la cual se une esto se denomina un elemento de respuesta a HRE; véanse ejemplos en el cuadro 42-1. 4) De modo alternativo, otras señales generadas por hormona pueden modificar la localización, cantidad o actividad de factores de transcripción y, de esta manera, influir sobre la unión al elemento regulador o de respuesta. 5) Los miembros de una superfamilia grande de receptores nucleares actúan con receptores de hormona descritos arriba, o de un modo análogo a los mismos. 6) Estos receptores nucleares interactúan con otro grupo grande de moléculas correguladoras para efectuar cambios en la transcripción de genes específicos.

Se han definido varios elementos de respuesta a hormona (HRE)

Los HRE semejan elementos potenciadores por cuanto no dependen de manera estricta de la posición y ubicación u orientación. Regularmente se encuentran dentro de algunos cientos de nucleótidos torrente arriba (5′) del sitio de inicio de la transcripción, pero pueden estar ubicados dentro de la región codificadora del gen, en intrones. Los HRE se definieron por medio de la estrategia que se ilustra en la figura 38-11. Se llegó a las secuencias de consenso ilustradas en el cuadro 42-1 mediante el análisis de muchos genes regulados por una hormona dada usando sistemas reportero heterólogos simples (figura 38-10). Si bien estos HRE simples se unen al complejo de hormona-receptor con mayor avidez que el DNA circundante (o el DNA de una fuente no relacionada) y confieren capacidad de respuesta hormonal a un gen reportero, pronto quedó de manifiesto que los circuitos reguladores de genes naturales deben ser bastante más complicados. Los glucocorticoides, las progestinas, los mineralocorticoides y los andrógenos tienen acciones fisiológicas muy diferentes. ¿De qué modo la especificidad requerida para estos efectos se logra por medio de regulación de la expresión de gen mediante el mismo HRE (cuadro 42-1)? Preguntas como ésta han llevado a experimentos que han permitido la elaboración de un modelo de regulación de la transcripción muy complejo. Por ejemplo, el HRE debe asociarse con otros elementos del DNA (y proteínas de unión asociadas) para que funcione de manera óptima. La extensa similitud de secuencia notada entre los receptores de hormona esteroide, especialmente en sus dominios de unión a DNA (DBD), llevó al descubrimiento de la **superfamilia de receptor nuclear** de proteínas. Éstas (y un gran número de **proteínas correguladoras**) permiten una amplia variedad de interacciones entre DNA y proteína, y entre una proteína y otra, y la especificidad necesaria para control fisiológico muy regulado. La **figura 42-11** ilustra un esquema de ese tipo de montaje.

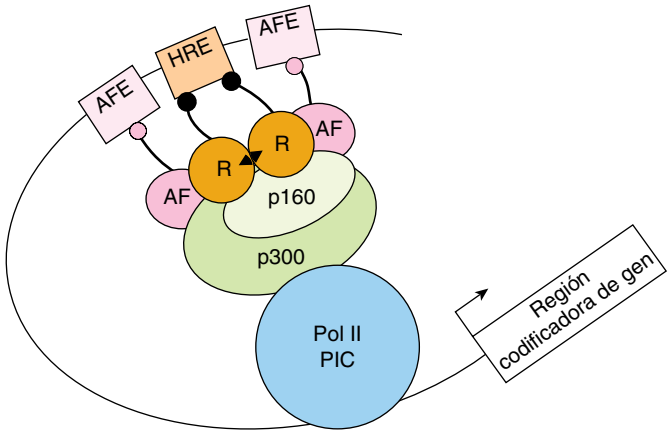


FIGURA 42-11 La unidad de transcripción de respuesta a hormona. Esta unidad es un montaje de elementos de DNA y proteínas unidas que interactúan, por medio de interacciones entre una proteína y otra, con diversas moléculas coactivadoras o correpresoras. Un componente esencial es el elemento de respuesta a hormona que se une al receptor unido a ligando (▲) (R). Asimismo, son importantes los elementos de factor accesorio (AFE) con los factores de transcripción unidos. Más de dos docenas de estos factores accesorios (AF), que suelen ser miembros de la superfamilia de receptor nuclear, se han enlazado con efectos hormonales sobre la transcripción. Los AF pueden interactuar entre sí, con los receptores nucleares que tienen ligando, o con correguladores. Estos componentes se comunican con la maquinaria de transcripción basal (BTC), formando la polimerasa II PIC (es decir, RNAP II y GTF) mediante un complejo corregulador que puede constar de uno o más miembros de las familias p160 (figura 36-10), correpresor, vinculado con mediador o CBP/p300 (cuadro 42-6). Recuerde que muchos de los correguladores de la transcripción portan actividades enzimáticas intrínsecas, que modifican de manera covalente el DNA, proteínas de transcripción, y las histonas presentes en los nucleosomas (que no se muestran aquí) en el potenciador (HRE, AFE) y el promotor, y alrededor de los mismos (capítulos 36, 38). En conjunto, la hormona, el receptor de hormona, la cromatina, el DNA y la maquinaria de transcripción integran y procesan señales hormonales para regular la transcripción de un modo fisiológico.

Existe una familia grande de proteínas receptoras nucleares

La superfamilia de receptor nuclear consta de un grupo diverso de factores de transcripción que se descubrió debido a una similitud de secuencia en sus dominios de unión a DNA (DBD). Esta familia, ahora con más de 50 miembros, comprende los receptores de hormona nuclear ya comentados, varios otros receptores cuyos ligandos se descubrieron tras la identificación de los receptores, y muchos receptores putativos o huérfanos para los cuales queda por descubrir un ligando.

Estos receptores nucleares tienen varias características estructurales en común (**figura 42-12**). Todos tienen un dominio de unión a DNA (DBD) ubicado centralmente que permite al receptor unirse con alta afinidad a un elemento de respuesta. El DBD contiene dos motivos de unión dedo de zinc (figura 38-14) que dirigen la unión sea como homodímeros, como heterodímeros (por lo general con una pareja receptor X retinoide [RXR]) o como monómeros. El elemento de respuesta blanco consta de una o dos secuencias de consenso de medio sitio de DNA dispuestas como una repetición invertida o directa. El espacio entre esta última ayuda a determinar la especificidad de unión. Así, en general, una repetición directa con 3, 4 o 5 regiones espaciadoras de nucleótido especifica la unión de receptores de vitamina D, hormona tiroidea, y ácido retinoico, respectivamente, al mismo elemento de respuesta de consenso (cuadro 42-1). Un **dominio de unión a ligando (LBD)** multifuncional está localizado en la mitad carboxilo terminal del receptor. El LBD se une a hormonas o metabolitos con selectividad y, de este modo, especifica una respuesta biológica particular. Asimismo, el LBD contiene dominios que median la unión de proteínas de choque por calor, dimerización, localización nuclear y transactivación. Esta última función es facilitada por la función de activación de transcripción carboxilo terminal **(dominio AF-2)**, que forma una superficie requerida para la interacción con coactivadores. Una **región bisagra** muy variable separa el DBD del LBD. Esta región proporciona flexibilidad al receptor, de manera que puede adoptar diferentes conformaciones de unión a DNA. Por último, hay una región amino terminal muy variable que contiene otro dominio de transactivación llamado **AF-1**. El dominio AF-1 probablemente proporciona funciones fisiológicas separadas por medio de la unión de diferentes proteínas correguladoras. Esta región del receptor, mediante el uso de promotores diferentes, sitios de empalme alternativos, y múltiples sitios de inicio de traducción, proporciona isoformas de receptor que comparten identidad de DBD y LBD pero ejercen diferentes respuestas fisiológicas debido a la asociación de diversos correguladores con este dominio AF-1 amino terminal variable.

Es posible clasificar de diversos modos este gran número de receptores hacia grupos. Aquí se comentan de acuerdo con la manera en que se unen a sus elementos de DNA respectivos (figura 42-12). Los receptores de hormona clásicos para glucocorticoides (GR), mineralocorticoides (MR), estrógenos (ER), andrógenos (AR) y progestinas (PR), se unen como homodímeros a secuencias repetidas invertidas. Otros receptores de hormona, como de receptor tiroideo (TR), ácido retinoico (RAR) y vitamina D (VDR), y receptores que se unen a diversos ligandos de metabolito como PPAR α, β y γ, FXR, LXR, PXR/SXR, y CAR, se unen como heterodímeros, con receptor X retinoide (RXR) como una pareja, para dirigir secuencias repetidas (figura 42-12 y **cuadro 42-5**). Otro grupo de receptores huérfanos que hasta ahora no tienen ligando conocido se unen como homodímeros o monómeros a secuencias repetidas directas.

El descubrimiento de la superfamilia de receptor nuclear ha llevado a una comprensión importante de cómo diversos metabolitos y xenobióticos regulan la expresión de gen y, de este modo, el metabolismo, la destoxificación y la eliminación de productos corporales normales, y agentes exógenos, como productos farmacéuticos (cuadro 42-5). No sorprende que esta área sea un fértil campo para la investigación de nuevas intervenciones terapéuticas.

Gran número de correguladores de receptor nuclear también participa en la regulación de la transcripción

El remodelado de cromatina (modificaciones de histona, metilación de DNA), la modificación de factor de transcripción por diversas actividades enzimáticas, y la comunicación entre los receptores nucleares y el aparato de transcripción basal, se logran por medio de interacciones entre una proteína y otra con una o

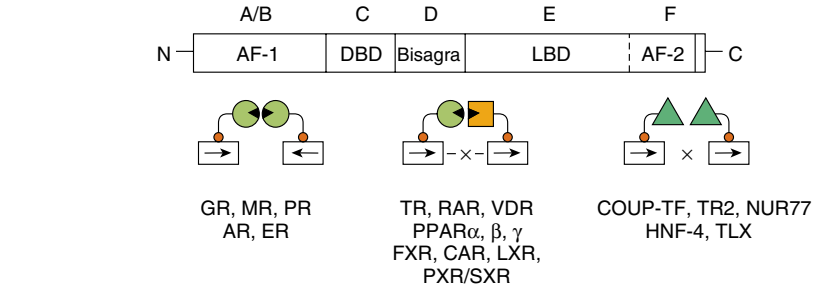


FIGURA 42-12 **La superfamilia de receptor nuclear.** Los miembros de esta familia se dividen en seis dominios estructurales (A a F). El dominio A/B también se denomina AF-1, o la región moduladora, porque está involucrado en la activación de la transcripción. El dominio C consta del dominio de unión a DNA (DBD). La región D contiene la bisagra, que proporciona flexibilidad entre el DBD y el dominio de unión a ligando (LBD, región E). La parte C terminal de la región E contiene AF-2, otro dominio importante para la transactivación. La región F está poco definida. Las funciones de estos dominios se comentan con mayor detalle en el texto. Los receptores que tienen ligandos conocidos, como las hormonas esteroides, se unen como homodímeros sobre medios sitios de repetición invertidos. Otros receptores forman heterodímeros con la pareja RXR sobre elementos repetidos directos. Puede haber espaciadores nucleótido de una a cinco bases entre estas repeticiones directas (DR1 a 5). Otra clase de receptores para la cual no se han determinado ligandos (receptores huérfanos) definitivamente se unen como homodímeros a repeticiones directas, y en ocasiones como monómeros a un medio sitio único.

CUADRO 42-5 **Receptores nucleares con ligandos especiales**[a]

Receptor		Pareja	Ligando	Proceso afectado
Peroxisoma	$PPAR_{\alpha}$	RXR (DR1)	Ácidos grasos	Proliferación de peroxisoma
Activado por proliferador	$PPAR_{\beta}$		Ácidos grasos	
	$PPAR_{\gamma}$		Ácidos grasos	Metabolismo de lípidos y carbohidratos
			Eicosanoides, tiazolidinedionas	
Farnesoide X	FXR	RXR (DR4)	Farnesol, ácidos biliares	Metabolismo de ácido biliar
Hígado X	LXR	RXR (DR4)	Oxiesteroles	Metabolismo de colesterol
Xenobiótico X	CAR	RXR (DR5)	Androstanos Fenobarbital Xenobióticos	Protección contra ciertos fármacos, metabolitos tóxicos y xenobióticos
	PXR	RXR (DR3)	Pregnanos	
			Xenobióticos	

[a] Muchos miembros de la superfamilia de receptor nuclear se descubrieron mediante clonación, y después se identificaron los ligandos correspondientes. Estos ligandos no son hormonas en el sentido clásico, pero tienen una función similar por cuanto activan a miembros específicos de la superfamilia de receptor nuclear. Los receptores aquí descritos forman heterodímeros con RXR y tienen secuencias de nucleótido variables que separan los elementos de unión de repetición directa (DR1 a 5). Estos receptores regulan diversos genes que codifican para citocromos p450 (CYP), proteínas de unión citosólicas, y transportadores de casete de unión a ATP (ABC) para influir sobre el metabolismo y proteger a las células contra medicamentos y agentes nocivos.

más de una clase de moléculas correguladoras. El número de estas moléculas correguladoras ahora excede 100, sin contar variaciones de especie y variantes de empalme. La primera de éstas en describirse fue la **proteína de unión a CREB (CBP)**. La CBP, mediante un dominio amino terminal, se une a la serina 137 fosforilada de CREB, y media la transactivación en respuesta a cAMP. Así, se describe como un coactivador. La CBP y su familiar cercano, p300, interactúan de manera directa o indirecta con diversas moléculas emisoras de señal, incluso proteína activadora-1 (AP-1), transductores de señal y activadores de transcripción (STAT), receptores nucleares y CREB (**figura 42-13**). La **CBP/p300** también se une a la familia de coactivadores p160 descrita más adelante, y a varias otras proteínas, incluso el factor de transcripción viral Ela, la proteína cinasa $p90^{RSK}$ y la RNA helicasa A. Tiene importancia notar, como se mencionó, que **CBP/p300 tiene actividad intrínseca de histona acetiltransferasa (HAT)**. En la figura 42-11 se ilustran algunas de las muchas acciones de CBP/p300, que parecen depender de actividades

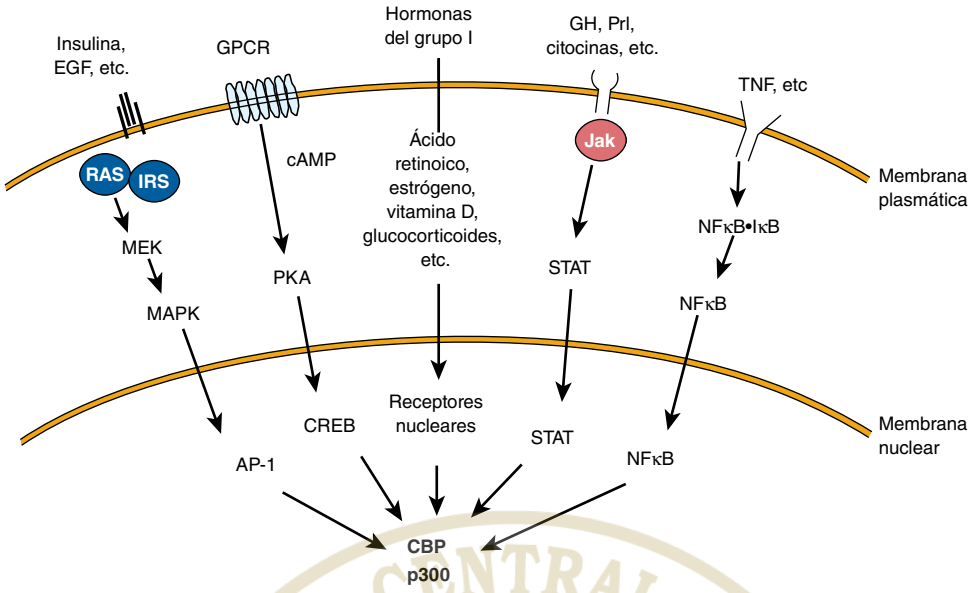


FIGURA 42-13 **Varias vías de transducción de señal convergen en CBP/p300**. Muchos ligandos que se asocian con receptores de membrana o nucleares finalmente convergen en CBP/p300. Se emplean varias vías de transducción de señal diferentes. (EGF, factor de crecimiento epidérmico; GH, hormona de crecimiento; Prl, prolactina; TNF, factor de necrosis tumoral; otras abreviaturas se desatan en el texto).

enzimáticas intrínsecas y su capacidad para servir como un andamio para la unión de otras proteínas. Otros correguladores desempeñan funciones similares.

Se han descrito varias otras familias de moléculas coactivadoras. Los miembros de la **familia de coactivadores p160**, todos de aproximadamente 160 kDa, incluyen: 1) SRC-1 y NCoA-1; 2) GRIP1, TIF2, y NCoA-2, y 3) p/CIP, ACTR, AIB1, RAC3 y TRAM-1 (**cuadro 42–6**). Los diferentes nombres para miembros dentro de una subfamilia suelen representar variaciones de especie o variantes de empalme menores. Hay alrededor de 35% de identidad de aminoácidos entre miembros de las diferentes subfamilias. Los coactivadores p160 comparten varias proteínas; 1) se unen a receptores nucleares de un modo dependiente de agonista y de dominio de transactivación AF2; 2) tienen un motivo de hélice-asa-hélice básica (bHLH) amino terminal conservado (capítulo 38); 3) tienen un dominio de transactivación carboxilo terminal débil y un dominio de transactivación amino terminal más fuerte en una región que se requiere para la interacción de CBP/p160; 4) contienen al menos tres de los **motivos LXXLL** requeridos para la interacción proteína-proteína con otros coactivadores, y 5) a menudo tienen actividad de HAT. La función de HAT es en particular interesante, dado que las mutaciones del dominio HAT inutilizan muchos de estos factores de transcripción. La idea que se sostiene actualmente sostiene que estas actividades de HAT acetilan histonas, lo cual facilita el remodelado de cromatina hacia un ambiente eficiente en cuanto a transcripción. De este modo, la acetilación/desacetilación de histona desempeña una función crucial en la expresión génica. Por último, es importante notar que se han reportado otros sustratos proteínicos para acetilación mediada por HAT, como activadores de transcripción de unión a DNA y otros correguladores. Esos eventos de PTM no histona probablemente también tienen importancia en la respuesta reguladora general.

CUADRO 42-6 **Algunas proteínas correguladoras de mamífero**

I. Familia de coactivadores de p300 kDa	
A. CBP	Proteína de unión a CREB
B. p300	Proteína de 300 kDa
II. Familia de coactivadores de 160 kDa	
A. SRC-1,2,3	Coactivador de receptor de esteroide 1,2,3
NCoA-1	Coactivador de receptor nuclear 1
B. TIF2	Factor intermediario transcripcional
GRIP1	Proteína de interacción con receptor de glucocorticoide
NCoA-2	Coactivador de receptor nuclear 2
C. p/CIP	Proteína vinculada con cointegrador p300/CBP 1
ACTR	Activador de los receptores de hormona tiroidea y ácido retinoico
AIB	Amplificado en cáncer mamario
RAC3	Coactivador asociado con receptor 3
TRAM-1	Molécula activadora de TR 1
III. Correpresores	
A. NCoR	Correpresor de receptor nuclear
B. SMRT	Mediador silenciador para RXR y TR
IV. Subunidades mediadoras	
A. TRAP	Proteínas asociadas con receptor de hormona tiroidea
B. DRIP	Proteínas que interactúan con el receptor de vitamina D
C. ARC	Cofactor reclutado por activador

Un pequeño número de proteínas, incluso NCoR y SMRT, comprenden la **familia correpresora**. Su función, al menos en parte, se describe en la figura 42-2. Otra familia incluye las TRAP, DRIP y ACR (cuadro 42-6). Estas proteínas representan subunidades del Mediador (capítulo 36) y varían de tamaño desde 80 kDa hasta 240 kDa, y se cree que enlazan el complejo de receptor-coactivador nuclear a RNA polimerasa II y los otros componentes del aparato de transcripción basal.

La función exacta de estos coactivadores se encuentra en investigación intensiva. Muchas de estas proteínas tienen actividades enzimáticas intrínsecas. Esto es en especial interesante en vista del hecho de que se ha propuesto que la acetilación, fosforilación, metilación, sumoilación y ubiquitinación (así como proteólisis y translocación celular) alteran la actividad de algunos de estos correguladores y sus blancos.

Parece ser que ciertas combinaciones de correguladores (y, de este modo, diferentes combinaciones de activadores e inhibidores) se encargan de acciones inducidas por ligando específicas por medio de diversos receptores. Además, estas interacciones sobre un promotor dado son dinámicas. En algunos casos, se han observado complejos que constan de hasta 45 factores de transcripción en un gen único.

RESUMEN

- Las hormonas, citocinas, interleucinas y factores de crecimiento usan diversos mecanismos de señalización para facilitar respuestas adaptativas celulares.
- El complejo de ligando-receptor sirve como la señal inicial para miembros de la familia de receptor nuclear.
- Las hormonas clase II, péptido/proteína y catecolamina, que se unen a receptores de superficie celular, generan diversas señales intracelulares, las cuales comprenden cAMP, cGMP, Ca^{2+}, fosfatidilinositidas y cascadas de proteína cinasa.
- Muchas respuestas a hormonas se logran mediante alteraciones del índice de transcripción de genes específicos.
- La superfamilia de proteínas de receptor nuclear desempeña una función fundamental en la regulación de la transcripción de gen.
- Los receptores nucleares, que pueden tener hormonas, metabolitos o fármacos como ligandos, se unen a elementos de DNA específicos como homodímeros o como heterodímeros con RXR. Algunos (receptores huérfanos) no tienen un ligando conocido pero se unen al DNA e influyen sobre la transcripción.
- Otra familia grande de proteínas correguladoras remodela la cromatina, modifica otros factores de transcripción, y forma puentes entre los receptores nucleares y el aparato de transcripción basal.

REFERENCIAS

Ahmadian M, Suh JM, Hah N, *et al*: PPARγ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. Nat Med 2013;19:557-566.

Arvanitakis L, Geras-Raaka E, Gershengorn MC: Constitutively signaling G-protein-coupled receptors and human disease. Trends Endocrinol Metab 1998;9:27.

Beene DL, Scott JD: A-kinase anchoring proteins take shape. Current Opinion in Cell Biol 2007;19:192.

Brummer T, Schmitz-Perffer C, Daly RJ: Docking proteins. FEBS Journal 2010; 277:4356-4369.

Cheung E, Kraus WL: Genomic analyses of hormone signaling and gene regulation. Annu Rev Physiol 2010;72:191-218.

Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR: Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 1994;264:1415.

Dasgupta S, Lonard DM, O′Malley BW: Nuclear receptor coactivators: master regulators of human health and disease. Annu Rev Med 2014:65:279-292.

Fantl WJ, Johnson DE, Williams LT: Signalling by receptor tyrosine kinases. Annu Rev Biochem 1993;62:453.

Hanoune J, Defer N: Regulation and role of adenylyl cyclase isoforms. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2001;41:145.

Jaken S: Protein kinase C isozymes and substrates. Curr Opin Cell Biol 1996;8:168.

Kobilka BK: Structural insights into adrenergic receptor function and pharmacology. Trends Pharmacol Sci. 2011;32:213-218.

Lee C-H, Olson P, Evans RM: Mini-review: lipid metabolism, metabolic diseases and peroxisome proliferators-activated receptor. Endocrinology 2003;144:2201.

Métivier R, Gallais R, Tiffoche C, *et al*: Cyclical DNA methylation of a transcriptionally active promter. Nature 2008;452:45.

Métivier R, Reid G, Gannon F: Transcription in four dimensions: nuclear receptor-directed initiation of gene expression. EMBO Journal 2006;7:161.

Montminy M: Transcriptional regulation by cyclic AMP. Annu Rev Biochem 1997;66:807.

Morris AJ, Malbon CC: Physiological regulation of G protein-linked signaling. Physiol Rev 1999;79:1373.

O′Malley B: Coregulators: from whence came these “master genes.” Mol Endocrinology 2007;21:1009.

Ratman D, Vanden Berghe W, Dejager, L *et al*: How glucocorticoid receptors modulate the activity of other transcription factors: a scope beyond tethering. Mol Cell Endocrinol. 2013;380:41-54.

Reiter E, Ahn S, Shukla AK: Molecular mechanism of β-arrestin-biased agonism at seven-transmembrane receptors. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2012;52:179-197.

Rosenfeld MG, Lunyak VV, Glass CK: Sensors and signals: a coactivator/corepressor/epigenetic code for integrating signal-dependent programs of transcriptional response. Genes and Dev 2006;20:1405.

Sonoda J, Pei L, Evans RM: Nuclear receptors: decoding metabolic disease. Fed of European Biochem Soc 2007;582:2.

Spiegelman BM: Banting Lecture 2012: Regulation of adipogenesis: toward new therapeutics for metabolic disease. Diabetes 2013;62:1774-1782.

Tang X, Tang G, Ozcan S: Role of microRNAs in diabetes. Biochim Biophys Acta 2008;1779:697.

Telese F, Gamliel A, Skowronska-Krawczyk D: “Seq-ing” insights into the epigenetics of neuronal gene regulation. Neuron 2013;77:606-623.

Walton KM, Dixon JE: Protein tyrosine phosphatases. Annu Rev Biochem 1993;62:101.

Preguntas de examen

Sección VIII. Aspectos bioquímicos de la comunicación extracelular e intracelular

1. Respecto a los lípidos de membrana, seleccione la respuesta FALSA.
   A. El principal fosfolípido por masa en membranas de ser humano por lo general es fosfatidilcolina.
   B. Los glucolípidos están ubicados en las capas interna y externa de la membrana plasmática.
   C. El ácido fosfatídico es un precursor de la fosfatidilserina, no así de la esfingomielina.
   D. La fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina están ubicadas principalmente en la capa externa de la membrana plasmática.
   E. El movimiento transversal ("flip-flop") de fosfolípidos en membranas es muy lento.

2. Respecto a las proteínas de membrana, seleccione la respuesta FALSA.
   A. Debido a consideraciones estéricas, las hélices alfa no pueden existir en membranas.
   B. Un gráfico de hidropatía ayuda a estimar si un segmento de una proteína es predominantemente hidrofóbico o hidrofílico.
   C. Ciertas proteínas están ancladas a la capa externa de membranas plasmáticas por medio de estructuras glucofosfatidilinositol (GPI).
   D. La adenilil ciclasa es una enzima marcador para la membrana plasmática.
   E. La mielina tiene un contenido muy alto de lípido en comparación con proteína.

3. Respecto al transporte de membrana, seleccione la afirmación FALSA.
   A. El potasio tiene una densidad de carga más baja que el sodio, y tiende a moverse con mayor rapidez a través de membranas que el sodio.
   B. El flujo de iones a través de canales iónicos es un ejemplo de transporte pasivo.
   C. La difusión facilitada requiere un transportador de proteína.
   D. La inhibición de la Na^+ K^+-ATPasa inhibirá la captación de glucosa, dependiente de sodio, en células intestinales.
   E. La insulina, al reclutar transportadores de glucosa hacia la membrana plasmática, aumenta la captación de glucosa en células adiposas, no así en el músculo.

4. Respecto a la Na^+ K^+-ATPasa, seleccione la afirmación FALSA.
   A. Su acción mantiene la concentración intracelular alta de sodio en comparación con potasio.
   B. Puede usar hasta 30% del gasto de ATP total de una célula.
   C. Es inhibida por la digital, un fármaco que es útil en ciertas afecciones cardíacas.
   D. Está ubicada en la membrana plasmática de células.
   E. La fosforilación está involucrada en su mecanismo de acción, lo que lleva a su clasificación como un transportador activo impulsado por ATP tipo P.

5. ¿Qué moléculas permiten a las células responder a una molécula emisora de señales extracelular específica?
   A. Carbohidratos receptores específicos localizados a la superficie de la membrana plasmática interna.
   B. Bicapa lipídica de la membrana plasmática.
   C. Canales iónicos.
   D. Receptores que reconocen de manera específica esa molécula mensajera particular y se unen a ella.
   E. Membranas nucleares intactas.

6. Indique el término que se aplica en general a las moléculas mensajeras extracelulares que se unen a proteínas receptoras transmembrana:
   A. Inhibidor competitivo.
   B. Ligando.
   C. Curva de Scatchard.
   D. Sustrato.
   E. Llave.

7. En la señalización autocrina
   A. Las moléculas mensajeras alcanzan sus células blanco por medio de paso por el torrente sanguíneo.
   B. Las moléculas mensajeras sólo viajan distancias cortas por el espacio extracelular hacia células que se encuentran en estrecha proximidad a la célula que está generando el mensaje.
   C. La célula que está produciendo el mensajero expresa receptores sobre su superficie que pueden responder a ese mensajero.
   D. Las moléculas mensajero por lo general se degradan rápidamente y, por ende, sólo pueden funcionar en distancias cortas.

8. Independientemente de cómo se inicia una señal, el evento de unión a ligando es propagado por medio de segundos mensajeros o reclutamiento de proteína. ¿Cuál es el resultado bioquímico final de estos eventos de unión?
   A. Una proteína en la parte media de una vía de señalización intracelular es activada.
   B. Una proteína en la parte inferior de una vía de señalización intracelular es activada.
   C. Una proteína en la parte superior de una vía de señalización extracelular es activada.
   D. Una proteína en la parte superior de una vía de señalización intracelular es desactivada.
   E. Una proteína en la parte superior de una vía de señalización intracelular es activada.

9. ¿Qué características de la superfamilia de receptores nucleares sugieren que estas proteínas han evolucionado a partir de un ancestro común?
   A. Todas se unen al mismo ligando con afinidad alta.
   B. Todas funcionan dentro del núcleo.
   C. Todas están sujetas a fosforilación reguladora.
   D. Todas contienen regiones de similitud/identidad alta de secuencia de aminoácidos.
   E. Todas se unen a DNA.

10. ¿Qué efecto tiene la degradación de complejos de receptor-ligando después de internalización sobre la capacidad de una célula para responder si vuelve a quedar expuesta de inmediato a la misma hormona?
   A. La respuesta celular es atenuada debido a un decremento del número de receptores celulares.

B. La respuesta celular es aumentada debido a competencia reducida de receptor-ligando.
C. La respuesta celular no cambia a estímulos subsiguientes.
D. La respuesta celular a hormona ahora es bimodal; aumentada durante un tiempo breve y después inactivada.

11. Típicamente, ¿cuál es la primera reacción después de que casi todos los receptores proteína-tirosina cinasas (RTK) se unen a su ligando?
A. Trimerización de receptor.
B. Degradación de receptor.
C. Desnaturalización de receptor.
D. Disociación de receptor.
E. Dimerización de receptor.

12. ¿Dónde se encuentra el dominio catalítico de los receptores proteína-tirosina cinasas?
A. Sobre la superficie extracelular del receptor, inmediatamente adyacente al dominio de unión a ligando.
B. Sobre el dominio citoplasmático del receptor.
C. Sobre una proteína independiente que se une con rapidez al receptor en el momento de unión a ligando.
D. Dentro de la porción del receptor que abarca transmembrana.

13. Las subunidades de las proteínas G heterotriméricas se llaman las subunidades ___, ___ y ___.
A. α, β y χ
B. α, β y δ
C. α, γ y δ
D. α, β y γ
E. γ, δ y η

14. De los receptores listados a continuación, ¿cuál puede conducir un flujo de iones a través de la membrana plasmática cuando está unido a su ligando cognado?
A. Receptor tirosina cinasas (RTK).
B. Receptores acoplados a proteína G (GPCR).
C. Receptores acoplados a proteína G.
D. Receptores de hormona esteroide.
E. Canales sensibles a ligando.

15. ¿Cuál de los que siguen NO es un ligando natural que se une a receptores acoplados a proteína G?
A. Hormonas.
B. Hormonas esteroides.
C. Quimioatrayentes.
D. Derivados del opio.
E. Neurotransmisores.

16. Coloque en el orden CORRECTO los eventos de señalización listados a continuación.
1. La proteína G se une a receptor activado, lo que forma un complejo de receptor-proteína G.
2. Liberación de GDP por la proteína G.
3. Cambio de conformación de las asas citoplasmáticas del receptor.
4. Unión de GTP por la proteína G.
5. Aumento de la afinidad del receptor por una proteína G sobre la superficie citoplasmática de la membrana.
6. Unión de una hormona o neurotransmisor a un receptor acoplado a proteína G.
7. Cambio conformacional de la subunidad α de la proteína G.

A. 6 – 3 – 5 – 1 – 2 – 4 – 7
B. 6 – 5 – 4 – 1 – 7 – 2 – 3
C. 6 – 3 – 5 – 1 – 7 – 2 – 4
D. 6 – 7 – 3 – 5 – 1 – 2 – 4
E. 6 – 3 – 5 – 4 – 7 – 2 – 1

17. ¿Cuáles proteínas G heterotriméricas acoplan receptores a la adenilil ciclasa por medio de la activación de subunidades G_α unidas a GTP?
A. Familia G_s.
B. Familia G_q.
C. Familia G_i.
D. Familia $G_{12/13}$.
E. Familia G_x.

18. ¿Qué debe suceder para evitar sobreestimulación por una hormona?
A. Las hormonas deben ser degradadas.
B. Las proteínas G deben ser recicladas y después degradadas.
C. Los receptores deben ser bloqueados para que no sigan activando proteínas G.
D. Los receptores deben dimerizarse.

19. ¿Cuál de las hormonas que siguen, llamada la hormona de "lucha o huida", es secretada por la médula suprarrenal?
A. Adrenalina.
B. Oxitocina.
C. Insulina.
D. Glucagón.
E. Somatostatina.

20. ¿Cuál hormona es secretada por las células α en el páncreas en respuesta a concentración baja de glucosa en sangre?
A. Insulina.
B. Glucagón.
C. Estradiol.
D. Adrenalina.
E. Somatostatina.

21. En las células hepáticas, ¿la expresión de genes que codifican para enzimas gluconeogénicas como la fosfoenolpiruvato carboxicinasa es inducida en respuesta a cuál de las moléculas que siguen?
A. cGMP.
B. Insulina.
C. ATP.
D. cAMP.
E. Colesterol.

22. ¿Qué sucede a la proteína cinasa A (PKA) después de la unión de cAMP?
A. Las subunidades reguladoras de PKA se disocian, lo que activa las subunidades catalíticas.
B. Las subunidades catalíticas de PKA a continuación se unen a dos subunidades reguladoras, lo que activa las subunidades catalíticas.
C. Las subunidades reguladoras inhibidoras se disocian de las subunidades catalíticas, lo que desactiva por completo la enzima.
D. Las subunidades reguladoras estimuladoras se disocian de las subunidades catalíticas, lo que inhibe la enzima.
E. La fosfodiesterasa se une a las subunidades catalíticas, lo que da lugar a la desactivación de enzima.


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN IX

Temas especiales (A)

CAPÍTULO 43

Nutrición, digestión y absorción

David A. Bender, PhD & Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la digestión y absorción de carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas y minerales.
- Explicar cómo los requerimientos de energía se pueden medir y estimar, y cómo la medición del cociente respiratorio permite estimar la mezcla de combustibles metabólicos que se están oxidando.
- Describir las consecuencias de la nutrición insuficiente: marasmo, caquexia y kwashiorkor.
- Explicar cómo se determinan los requerimientos de proteína y por qué se requiere una cantidad mayor de algunas proteínas que de otras para mantener el balance de nitrógeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (principalmente carbohidratos y lípidos), proteína (para el crecimiento, y para el recambio de proteínas hísticas, así como una fuente de combustible metabólico), fibra (para formación de volumen en la luz del intestino), minerales (que contienen elementos con funciones metabólicas específicas), y vitaminas y ácidos grasos esenciales (compuestos orgánicos necesarios en cantidades menores para otras funciones metabólicas y fisiológicas). Antes de su absorción y utilización, los polisacáridos, triacilgliceroles y proteínas que constituyen la mayor parte de la dieta, se deben hidrolizar hacia los monosacáridos, ácidos grasos y aminoácidos que los constituyen, respectivamente. Los minerales y las vitaminas se deben liberar de la matriz de alimento compleja antes de que se puedan absorber y utilizar.

La **nutrición insuficiente** es un problema a nivel mundial, lo que lleva a alteración de crecimiento, sistema inmunitario defectuoso, y capacidad reducida para trabajar. En contraste, en países desarrollados hay consumo excesivo de alimento (en especial de grasa), lo que conduce a obesidad, el desarrollo de diabetes, enfermedad cardiovascular y algunas formas de cáncer. En el mundo existe más gente con obesidad y sobrepeso que personas con bajo peso. Las deficiencias de vitamina A, hierro y yodo plantean importantes preocupaciones respecto a la salud en muchos países, y las deficiencias de otras vitaminas y minerales son una causa importante de mala salud. En países desarrollados, la deficiencia de nutrientes es rara, aunque hay sectores vulnerables de la población en riesgo. La ingestión de minerales y vitaminas que es adecuada para prevenir deficiencia puede ser inadecuada para promover la salud óptima y la longevidad.

La secreción excesiva de ácido gástrico, relacionada con infección por *Helicobacter pylori,* llega a producir **úlceras** gástricas y duodenales; pequeños cambios de la composición de la bilis pueden originar cristalización de colesterol como **cálculos biliares**; la insuficiencia de la secreción pancreática exocrina (como en la **fibrosis quística**) lleva a nutrición insuficiente y esteatorrea. La **intolerancia a la lactosa** es el resultado deficiencia de lactasa, lo que ocasiona diarrea y molestias intestinales cuando se consume la lactosa. La absorción de péptidos intactos que estimulan respuestas de anticuerpos causa **reacciones alérgicas**; la **enfermedad celiaca** es una reacción alérgica al gluten del trigo.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos se digieren mediante hidrólisis para liberar oligosacáridos, y después monosacáridos y disacáridos. El aumento de la glucosa en la sangre después de una dosis de prueba de carbohidrato en comparación con el que se observa después de una cantidad equivalente de glucosa (como glucosa o a partir de un alimento feculento de referencia) se conoce como el **índice glucémico**. La glucosa y la galactosa tienen un índice de 1 (o 100%), al igual que la lactosa, maltosa, isomaltosa y trealosa, que dan lugar a estos monosacáridos en el momento de la hidrólisis. La fructosa y los alcoholes azúcar se absorben con menos rapidez y tienen un índice glucémico más bajo, al igual que la sacarosa. El índice glucémico del almidón varía desde cerca de 1 (o 100%) hasta alrededor de 0 (figura 15-13), como resultado de índices variables de hidrólisis, y el de los polisacáridos no feculentos es de 0. Se considera que los alimentos que tienen un índice glucémico bajo son más beneficiosos porque causan menos fluctuación de la secreción de insulina. Los polisacáridos feculentos y no feculentos resistentes proporcionan sustratos para la fermentación bacteriana en el intestino grueso, y el butirato y otros ácidos grasos de cadena corta resultantes proporcionan una importante fuente de combustible para los enterocitos intestinales. Hay algunas evidencias de que el butirato también tiene actividad antiproliferativa y, así, proporciona protección contra el cáncer colorrectal.

Las amilasas catalizan la hidrólisis del almidón

La hidrólisis del almidón es catalizada por amilasas salivales y pancreáticas, que catalizan la hidrólisis al azar de enlaces glucósido α (1→ 4), lo que da dextrinas, y después una mezcla de glucosa, maltosa y maltotriosa, y dextrinas ramificadas pequeñas (a partir de puntos de ramificación en la amilopectina, figura 15-12).

Los disacáridos son enzimas del borde en cepillo

Los disacáridos, la maltasa, la sacarasa-isomaltasa (una enzima bifuncional que cataliza la hidrólisis de sacarosa e isomaltosa), lactasa y trehalasa están localizadas en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se absorben los monosacáridos resultantes y los que surgen a partir de la dieta. Rara vez ocurre deficiencia congénita de lactasa en lactantes, lo que lleva a intolerancia a la lactosa y falta de crecimiento y desarrollo cuando se les alimenta con leche materna o leche artificial para lactantes normales. Ocurre deficiencia congénita de sacarasa-isomaltasa entre los inuit o esquimales, lo que lleva a intolerancia a la sacarosa, con diarrea persistente y falta de crecimiento y desarrollo cuando la dieta contiene sacarosa.

En casi todos los mamíferos y en la mayoría de los humanos, la actividad de la lactasa empieza a disminuir después del destete, y se pierde casi por completo hacia el final de la adolescencia, lo que lleva a **intolerancia a la lactosa**. La lactosa permanece en la luz del intestino, donde es un sustrato para la fermentación bacteriana hacia lactato, lo que da por resultado molestias en el abdomen y diarrea después del consumo de cantidades relativamente grandes. En dos grupos de población, las personas originarias del norte de Europa, y tribus nómadas del África subsahariana y Arabia, la lactasa persiste después del destete y hasta la vida adulta. Los mamíferos marinos secretan una leche con alto contenido de grasa que no contiene carbohidrato, y sus crías carecen de lactasa.

Hay dos mecanismos separados para la absorción de monosacáridos en el intestino delgado

La glucosa y la galactosa se absorben mediante un proceso dependiente de sodio. Se transportan mediante la misma proteína de transporte (SGLT 1) y compiten entre sí por la absorción intestinal (**figura 43-1**). Otros monosacáridos se absorben mediante difusión mediada por acarreador. Dado que no se transportan de manera activa, la fructosa y los alcoholes azúcar sólo se absorben a favor de su gradiente de concentración, y después de una ingestión moderadamente alta, cierta cantidad permanece en la luz del intestino, y actúa como un sustrato para la fermentación bacteriana. La ingestión de grandes cantidades de fructosa y alcoholes de azúcar puede llevar a diarrea osmótica.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LÍPIDOS

Los principales lípidos en la dieta son triacilgliceroles y, en menor grado, fosfolípidos. Se trata de moléculas hidrofóbicas, las cuales se tienen que hidrolizar y emulsificar hacia gotitas muy pequeñas (micelas, 4 a 6 nm de diámetro) antes de que sea posible absorberlas. Las vitaminas liposolubles, A, D, E y K, y varios otros

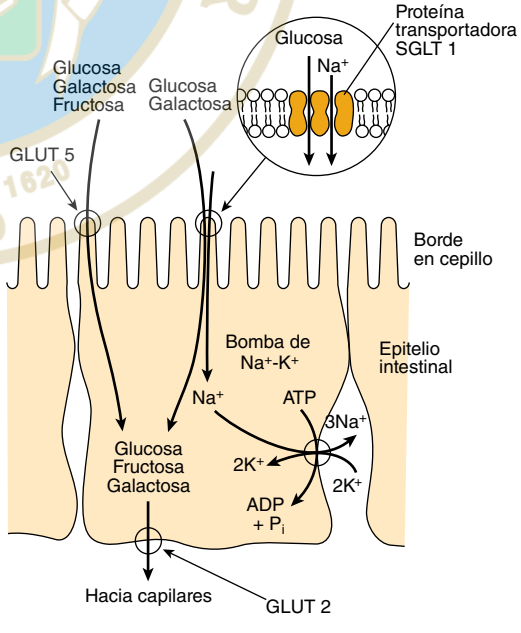


FIGURA 43-1 Transporte de glucosa, fructosa y galactosa a través del epitelio intestinal. El transportador SGLT 1 está acoplado a la bomba de Na^+-K^+, lo que permite que la glucosa y la galactosa se transporten contra sus gradientes de concentración. El transportador facilitador independiente de Na^+ GLUT 5 permite que la fructosa, al igual que la glucosa y la galactosa, se transporten a favor de sus gradientes de concentración. Todos los azúcares salen de la célula por medio del transportador facilitador GLUT 2.

lípidos (entre ellos colesterol y carotenos) se absorben disueltos en las micelas de lípido. La absorción de las vitaminas liposolubles está alterada cuando la dieta tiene muy poca grasa.

La hidrólisis de triacilgliceroles es iniciada por las lipasas lingual y gástrica, que atacan el enlace *sn*-3 éster que forma 1,2-diacilgliceroles y ácidos grasos libres, que actúan como agentes emulsificadores. La lipasa pancreática es secretada hacia el intestino delgado, y para tener actividad requiere otra proteína pancreática, la colipasa. Es específica para los enlaces éster primarios (es decir, posiciones 1 y 3 en triacilgliceroles), lo que da lugar a 2-monoacilgliceroles y ácidos grasos libres como los principales productos terminales de la digestión de triacilglicerol luminal. Inhibidores de lipasa pancreática son usados para inhibir hidrólisis de triacilglicerol en el tratamiento de obesidad grave. La esterasa pancreática en la luz intestinal hidroliza monoacilgliceroles, pero éstos son sustratos inadecuados, y sólo ~ 25% del triacilglicerol ingerido es hidrolizado por completo hacia glicerol y ácidos grasos antes de la absorción (**figura 43-2**). Las sales biliares, formadas en el hígado y secretadas en la bilis, permiten la emulsificación de los productos de la digestión de lípido hacia micelas junto con fosfolípidos de la dieta y colesterol secretado en la bilis (alrededor de 2 g/día), así como colesterol de la dieta (aproximadamente 0.5 g/día). Las micelas son más pequeñas de 1 μm de diámetro y solubles, permiten que los productos de la digestión, incluso las vitaminas liposolubles, sean transportados a través del ambiente acuoso de la luz intestinal para que queden en contacto estrecho con el borde en cepillo de las células de la mucosa, lo que permite la captación hacia el epitelio. Las sales biliares permanecen en la luz intestinal, donde son absorbidas en su mayor parte desde el íleon hacia la **circulación enterohepática** (capítulo 26).

Dentro de la luz del intestino, los 1-monoacilgliceroles se hidrolizan hacia ácidos grasos y glicerol, y los 2-monoacilgliceroles se reacilan hacia triacilgliceroles por medio de la **vía del monoacilglicerol**. El glicerol liberado en la luz intestinal es absorbido hacia la vena porta; el glicerol liberado dentro del epitelio se reutiliza para la síntesis de triacilglicerol por medio de la vía del ácido fosfatídico normal (capítulo 24). Los ácidos grasos de cadena larga se esterifican para dar triacilglicerol en las células de la mucosa, y junto con los otros productos de la digestión de lípido, se secretan como quilomicrones hacia los linfáticos, y entran en el torrente sanguíneo por medio del conducto torácico (capítulo 25). Los ácidos grasos de cadena corta y media se absorben principalmente hacia la vena porta hepática como ácidos grasos libres.

El colesterol es absorbido disuelto en micelas de lípido y se esterifica principalmente en la mucosa intestinal antes de ser incorporado hacia quilomicrones. Los esteroles y estanoles de vegetales (en los cuales el anillo B está saturado) compiten con el colesterol por esterificación, pero son sustratos inadecuados, de modo que hay una cantidad aumentada de colesterol no esterificado en las células de la mucosa. El colesterol no esterificado y otros esteroles son transportados de manera activa hacia afuera de las células de la mucosa, hacia la luz intestinal. Esto significa que los esteroles y estanoles de vegetales inhiben con eficacia la absorción no sólo del colesterol de la dieta, sino también de la cantidad mayor que se secreta en la bilis, de modo que disminuyen el contenido de colesterol corporal total y, por ende, la concentración plasmática de colesterol.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE PROTEÍNAS

Las proteínas naturales son resistentes a la digestión porque pocos enlaces peptídicos están accesibles a las enzimas proteolíticas, sin desnaturalización previa de las proteínas de la dieta (mediante calor en la cocción y por medio de la acción del ácido gástrico).

Varios grupos de enzimas catalizan la digestión de proteínas

Hay dos clases principales de enzimas digestivas proteolíticas **(proteasas)**, con diferentes especificidades para los aminoácidos que forman el enlace peptídico que se va a hidrolizar. Las **endopeptidasas** hidrolizan enlaces peptídicos entre aminoácidos específicos en toda la molécula; son las primeras enzimas en actuar y dan un número mayor de fragmentos de menor tamaño. La pepsina en el jugo gástrico cataliza la hidrólisis de enlaces peptídicos adyacentes a aminoácidos con cadenas laterales abultadas (aromáticos y de cadena ramificada, y a metionina). El páncreas secreta tripsina, quimotripsina y elastasa hacia el intestino delgado. La tripsina cataliza la hidrólisis de ésteres lisina y arginina; la quimotripsina, la de ésteres de aminoácidos aromáticos, y la elastasa, la de ésteres de aminoácidos alifáticos neutros pequeños. Las **exopeptidasas** catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos, uno a la vez, desde los extremos de péptidos. Las **carboxipeptidasas**, secretadas en el jugo pancreático, liberan aminoácidos desde el carboxilo terminal libre; las **aminopeptidasas**, secretadas por las células de la mucosa intestinal, liberan aminoácidos desde el amino terminal. Las **dipeptidasas** y **tripeptidasas** en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal catalizan la hidrólisis de dipéptidos y tripéptidos, que no son sustratos para aminopeptidasas ni carboxipeptidasas.

Las proteasas se secretan como **zimógenos** inactivos; el sitio activo de la enzima está enmascarado por una pequeña región de la cadena peptídica que se elimina mediante hidrólisis de un enlace peptídico específico. El pepsinógeno se activa hacia pepsina por el ácido gástrico y por pepsina activada. En el intestino delgado, el tripsinógeno, el precursor de la tripsina, se activa mediante la enteropeptidasa, que es secretada por las células epiteliales del duodeno; la tripsina a continuación puede activar al quimotripsinógeno hacia quimotripsina, la proelastasa hacia elastasa, la procarboxipeptidasa hacia carboxipeptidasa, y la proaminopeptidasa hacia aminopeptidasa.

Los aminoácidos libres y los péptidos pequeños se absorben mediante mecanismos diferentes

El producto terminal de la acción de las endopeptidasas y las exopeptidasas es una mezcla de aminoácidos libres, dipéptidos y tripéptidos, y oligopéptidos, todos los cuales se absorben. Los aminoácidos libres se absorben a través de la mucosa intestinal por medio de transporte activo dependiente de sodio. Hay varios transportadores de aminoácido diferentes, con especificidad para la naturaleza de la cadena lateral del aminoácido (grande o pequeña, neutra, ácida o básica). Los diversos aminoácidos transportados por cualquier transportador compiten entre sí por la absorción y por la captación hacia los tejidos. Los dipéptidos y tripéptidos entran en el borde en cepillo de las células de la

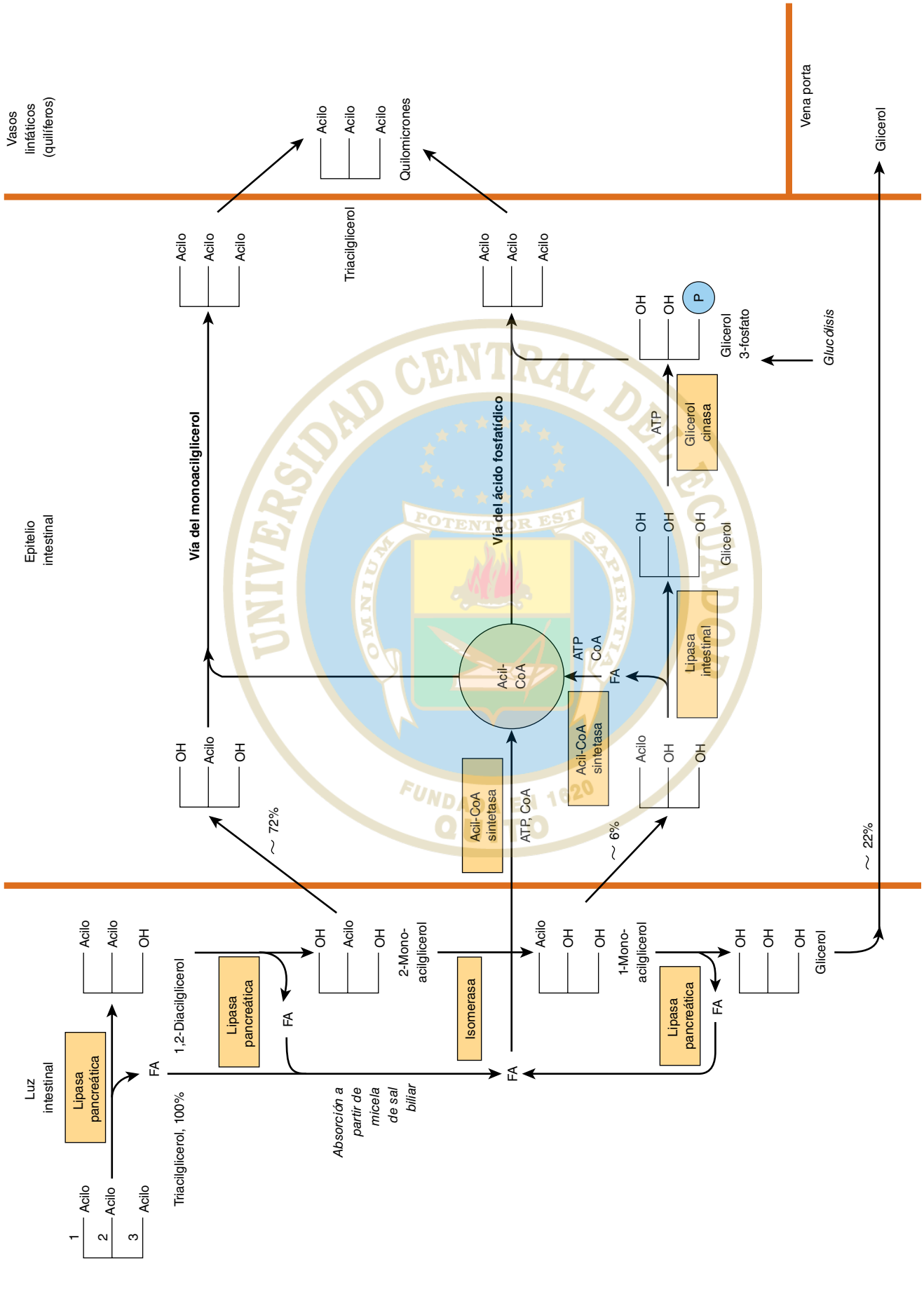


FIGURA 43-2 Digestión y absorción de triacilgliceroles. Los valores dados para el porcentaje de captación pueden variar de manera amplia, pero indican la importancia relativa de las tres rutas mostradas.

mucosa intestinal, donde se hidrolizan hacia aminoácidos libres, que a continuación se transportan hacia la vena porta hepática. Los péptidos relativamente grandes pueden absorberse intactos, sea mediante captación hacia células epiteliales de la mucosa (transcelular) o al pasar entre células epiteliales (paracelular). Muchos de esos péptidos son suficientemente grandes como para estimular la formación de anticuerpos; ésta es la base de las **reacciones alérgicas** a alimentos.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE VITAMINAS Y MINERALES

Las vitaminas y los minerales se liberan desde los alimentos durante la digestión, aunque esto no es completo, y la disponibilidad de vitaminas y minerales depende del tipo de alimento y, en especial para los minerales, de la presencia de compuestos quelantes. Las vitaminas liposolubles se absorben en las micelas de lípido que son el resultado de la digestión de grasa; las vitaminas hidrosolubles y casi todas las sales minerales se absorben desde el intestino delgado sea mediante transporte activo o mediante difusión mediada por acarreador, seguida por unión a proteínas intracelulares para lograr captación concentrativa. La absorción de la vitamina B_{12} requiere una proteína de transporte específica, el factor intrínseco (capítulo 44); la absorción de calcio depende de vitamina D; la absorción de cinc probablemente requiere un ligando de unión a cinc secretado por el páncreas exocrino, y la absorción de hierro es limitada (véase más adelante).

La absorción de calcio depende de la vitamina D

Además de su función en la regulación de la homeostasis del calcio, la vitamina D se requiere para absorción intestinal del mismo. La síntesis de proteína de unión a calcio intracelular, **calbindina**, necesaria para la absorción del calcio, es inducida por la vitamina D. La vitamina D también actúa para reclutar transportadores de calcio hacia la superficie celular, de modo que aumenta la absorción de calcio con rapidez (un proceso que es independiente de la síntesis de proteína nueva).

El ácido fítico (hexafosfato de inositol) en los cereales se une al calcio en la luz del intestino, lo que evita su absorción. El fitato también produce quelación de otros minerales, entre ellos el cinc. Esto es principalmente un problema entre personas que consumen grandes cantidades de productos de trigo integral sin levadura (ázimo); la levadura contiene una enzima, la **fitasa**, que desfosforila el fitato, lo que lo hace inactivo. Las concentraciones altas de ácidos grasos en la luz intestinal, como resultado de absorción alterada de grasa, también pueden reducir la absorción del calcio, al formar sales de calcio insolubles; una ingestión alta de oxalato a veces puede causar deficiencia, porque el oxalato de calcio es insoluble.

La absorción de hierro es limitada y está estrictamente controlada, pero la vitamina C y el alcohol la aumentan

Aunque la deficiencia de hierro es un problema frecuente, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, alrededor de 10% de la población tiene riesgo de sobrecarga de hierro (**hemocromatosis**) dependiente de mecanismos genéticos, y para disminuir el riesgo de efectos adversos de la generación no enzimática de radicales libres por sales de hierro, la absorción se encuentra estrictamente regulada. El hierro inorgánico se transporta hacia la célula de la mucosa mediante un transportador de ion metálico divalente enlazado a protón, y se acumula dentro de la célula mediante unión a la **ferritina**. El hierro abandona la célula de la mucosa por medio de una proteína de transporte ferroportina, pero sólo si hay **transferrina** libre en el plasma a la cual unirse. Una vez que la transferrina queda saturada con hierro, cualquiera que se haya acumulado en las células de la mucosa se pierde cuando las células se desprenden. La expresión del gen que codifica para ferroportina (y posiblemente también del que codifica para el transportador de ion metálico divalente) es regulada en dirección descendente por la hepcidina, un péptido secretado por el hígado cuando las reservas corporales de hierro son adecuadas. En respuesta a hipoxia, anemia o hemorragia, la síntesis hepcidina se reduce, lo que lleva a incremento de la síntesis de ferroportina, y de la absorción de hierro (**figura 43-3**). Como resultado de esta barrera de la mucosa, sólo se absorbe alrededor de 10% del hierro de la dieta, y sólo 1 a 5% del que proviene de muchos alimentos vegetales.

El hierro inorgánico se absorbe en el estado de Fe^{2+} (reducido); por ende, la presencia de agentes reductores aumenta la absorción. El compuesto más eficaz es la **vitamina C**, y si bien las ingestiones de 40 a 80 mg de vitamina C/día son más que adecuadas para satisfacer los requerimientos, una ingestión de 25 a 50 mg por cada comida aumenta la absorción de hierro, en especial cuando se usan sales de hierro para tratar anemia por deficiencia de hierro. El alcohol y la fructosa también aumentan la absorción de hierro. El hierro hem proveniente de la carne se absorbe por separado y está considerablemente más disponible que el hierro inorgánico. Sin embargo, el calcio altera la absorción de hierro tanto inorgánico como hem (un vaso de leche con una comida reduce de manera significativa la disponibilidad de hierro).

BALANCE DE ENERGÍA: NUTRICIÓN EXCESIVA O INSUFICIENTE

Después del suministro de agua, el primer requerimiento del cuerpo es de combustibles metabólicos: grasas, carbohidratos, aminoácidos provenientes de proteínas (cuadro 16-1). La ingestión de alimento mayor que el gasto de energía lleva a **obesidad**, mientras que la ingestión menor que el gasto lleva a emaciación, **marasmo** y **kwashiorkor**. Tanto la obesidad como la desnutrición insuficiente grave se relacionan con aumento de la mortalidad. El índice de masa corporal = peso (en kilogramos)/estatura^2 (en metros) suele usarse como una manera de expresar obesidad relativa; un rango deseable es entre 20 y 25.

Los requerimientos de energía se estiman mediante medición del gasto de energía

El gasto de energía puede determinarse de manera directa, al medir la producción de calor a partir del cuerpo, pero por lo normal se estima de modo indirecto a partir del consumo de oxígeno. Hay un gasto de energía de 20 kJ/L de oxígeno consumido, al margen de si el combustible que se está metabolizando es carbohidrato, grasa o proteína (cuadro 14-1).

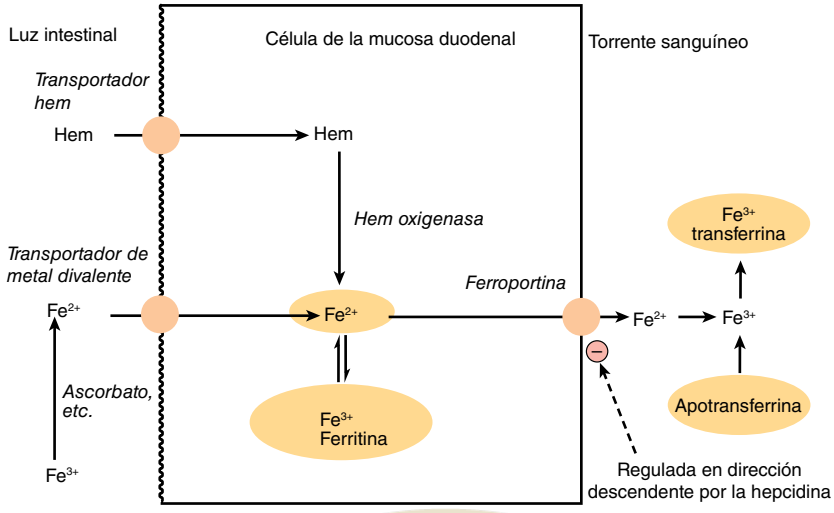


FIGURA 43-3 Absorción de hierro. La hepcidina secretada por el hígado regula en dirección descendente la síntesis de ferroportina y limita la absorción de hierro.

La medición de la proporción del volumen de dióxido de carbono producido: volumen de oxígeno consumido **(cociente respiratorio, RQ)** es una indicación de la mezcla de combustibles metabólicos que se están oxidando (cuadro 14-1).

Una técnica más reciente permite estimar el gasto total de energía durante un periodo de una a dos semanas, usando agua con doble marcado con isótopo, $^{2}H_{2}{}^{18}O$. El ^{2}H se pierde del cuerpo sólo en agua, mientras que el ^{18}O se pierde tanto en agua como en el dióxido de carbono; la diferencia del índice de pérdida de ambas marcas permite estimar la producción total de dióxido de carbono y, por ende, el consumo de oxígeno y el gasto de energía **(figura 43-4)**.

El **índice metabólico basal (BMR)** es el gasto de energía por el cuerpo cuando está en reposo, pero no durmiendo, en condiciones controladas de neutralidad térmica, medido alrededor de 12 horas después de la última comida, y depende del peso, la edad y el sexo. El **gasto total de energía** depende del BMR, la energía requerida para actividad física, y el costo de energía de la síntesis de reservas en el estado posprandial. Por ende, es posible calcular el requerimiento de energía de un individuo a partir del peso corporal, la edad, el sexo y la magnitud de la actividad física. El peso corporal afecta al BMR porque hay una mayor cantidad de tejido activo en un cuerpo de mayor tamaño. El decremento del BMR con la edad, incluso cuando el peso corporal permanece constante, es el resultado del reemplazo del tejido muscular por tejido adiposo, que es menos activo desde el punto de vista metabólico. De modo similar, las mujeres tienen un BMR bastante más bajo que los varones del mismo peso corporal y edad, porque el cuerpo de las mujeres contiene proporcionalmente más tejido adiposo.

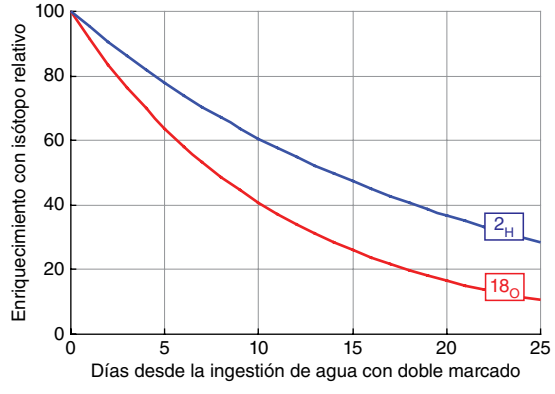


FIGURA 43-4 Agua marcada con dos isótopos para estimación del gasto de energía.

Los requerimientos de energía aumentan con la actividad

La manera más útil de expresar el costo de energía de actividades físicas es como un múltiplo del BMR. Esto se conoce como la **proporción de actividad física (PAR)** o el **equivalente metabólico de la tarea** (MET). En las actividades sedentarias sólo se usan alrededor de 1.1 a 1.2 × BMR. En contraste, el ejercicio vigoroso, como subir escaleras, caminar cuesta arriba a campo traviesa, etc., puede usar 6 a 8 × BMR. El **nivel de actividad física (PAL)** general es la suma de la PAR de diferentes actividades, multiplicada por el tiempo durante el cual se efectúa esa actividad, dividida por 24 horas.

Diez por ciento del rendimiento de energía de una comida puede gastarse en la formación de reservas

Después de una comida hay un aumento considerable del índice metabólico **(termogénesis inducida por la dieta)**. Una pequeña parte de esto es el costo de energía de la secreción de enzimas digestivas y del transporte activo de los productos de la digestión; la parte principal es el resultado de sintetizar reservas de glucógeno, triacilglicerol y proteína.

Hay dos formas extremas de nutrición insuficiente

El **marasmo** puede ocurrir tanto en adultos como en niños y se encuentra en grupos vulnerables de todas las poblaciones. El

kwashiorkor afecta a niños y sólo se ha reportado en países en desarrollo. La característica distintiva del kwashiorkor que es hay retención de líquido, que lleva a edema e infiltración grasa del hígado. El marasmo es un estado de emaciación extrema; es el resultado de balance negativo de energía durante un periodo prolongado. No sólo las reservas de grasa del cuerpo se han agotado, sino que también hay emaciación de músculo, y a medida que progresa el estado hay pérdida de proteína del corazón, el hígado y los riñones. Los aminoácidos liberados por el catabolismo de proteínas hísticas se usan como una fuente de combustible metabólico y como sustratos para la gluconeogénesis a fin de mantener un aporte de glucosa para el cerebro y los eritrocitos (capítulo 20). Como resultado de la síntesis reducida de proteínas, hay alteración de la respuesta inmunitaria y más riesgo de infecciones. Ocurre deterioro de la proliferación celular en la mucosa intestinal, lo que da por resultado disminución de la superficie de la mucosa intestinal y reducción de la absorción de tantos nutrientes como están disponibles.

Los pacientes con cáncer avanzado y AIDS están desnutridos

Los pacientes con cáncer avanzado, infección por HIV y AIDS, y con varias otras enfermedades crónicas, suelen tener nutrición insuficiente, estado llamado **caquexia**. Desde el punto de vista físico, muestran todos los signos del marasmo, pero hay bastante más pérdida de proteína corporal que en la inanición. La secreción de citocinas en respuesta a infección y cáncer aumenta el catabolismo de proteína hística por la vía de la ubiquitina-proteasoma dependiente de ATP, de modo que aumenta el gasto de energía. Esto difiere del marasmo, en el cual la síntesis de proteína está reducida, pero el catabolismo no está afectado. Los pacientes son **hipermetabólicos**, esto es, tienen un aumento considerable del índice metabólico basal. Además de la activación de la vía de ubiquitina-proteasoma del catabolismo de proteína, otros tres factores están involucrados. Muchos tumores metabolizan glucosa de manera anaeróbica para liberar lactato; este último a continuación se usa para la gluconeogénesis en el hígado, que consume energía con un costo neto de 6 ATP por cada mol de glucosa que entra en el ciclo (figura 19-4). Hay aumento de la estimulación de **proteínas desacopladoras** por **citocinas**, lo que lleva a termogénesis y aumento de la oxidación de combustibles metabólicos. Ocurre **ingreso inútil de lípidos** a ciclo porque la lipasa sensible a hormona es activada por un proteoglucano secretado por tumores, lo que da por resultado la liberación de ácidos grasos desde el tejido adiposo, y reesterificación (con un costo de ATP) hacia triacilgliceroles en el hígado, que se exportan en VLDL.

El kwashiorkor afecta a niños que tienen nutrición insuficiente

Además de la emaciación del tejido muscular, la pérdida de mucosa intestinal y respuestas inmunitarias alteradas que se observan en el marasmo, los niños con **kwashiorkor** muestran varios datos típicos. La característica que define el problema es el **edema**, relacionado con decremento de la concentración de proteínas plasmáticas. Además, hay agrandamiento del hígado como resultado de acumulación de grasa. Antes se creía que la causa del kwashiorkor era falta de proteína, con ingreso más o menos adecuado de energía; sin embargo, el análisis de las dietas de los niños afectados muestra que no es así. La deficiencia de proteína lleva a disminución del crecimiento, y en niños con kwashiorkor esta disminución es menos acentuada que en aquellos con marasmo. Además, el edema empieza a disminuir en etapas tempranas del tratamiento, cuando el niño aún está recibiendo una dieta baja en proteína.

Con mucha frecuencia, una infección precipita el kwashiorkor. Superpuesta sobre la deficiencia general de alimento, probablemente hay una deficiencia de nutrientes antioxidantes, como cinc, cobre, caroteno y vitaminas C y E. La **explosión respiratoria** en respuesta a infección lleva a la producción de oxígeno y **radicales libres** halógeno como parte de la acción citotóxica de macrófagos estimulados; dicho estrés oxidante añadido bien puede desencadenar kwashiorkor.

REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y AMINOÁCIDO

Los requerimientos de proteína pueden determinarse al medir el balance de nitrógeno

El estado de nutrición en cuanto a proteína puede determinarse al medir la ingestión en la dieta y el egreso de compuestos nitrogenados desde el cuerpo. Aunque los ácidos nucleicos también contienen nitrógeno, la proteína es la principal fuente de nitrógeno en la dieta, y la medición de la ingestión total de nitrógeno da un buen estimado de la ingestión de proteína (miligramos de N $\times$ 6.25 = miligramos de proteína, puesto que N es 16% de casi todas las proteínas). El egreso de N desde el cuerpo ocurre principalmente en la urea, y en cantidades menores de otros compuestos en la orina, proteína no digerida en las heces; también pueden perderse cantidades importantes en el sudor y en la piel descamada. La diferencia entre el ingreso y el egreso de compuestos nitrogenados se conoce como el **balance de nitrógeno**. Pueden definirse tres estados. En un adulto sano, el balance de nitrógeno está en **equilibrio**, cuando el ingreso es igual al egreso, y no hay cambio del contenido corporal total de proteína. En un niño en crecimiento, una embarazada, o una persona en recuperación luego de pérdida de proteína, la excreción de compuestos nitrogenados es menor que la ingestión en la dieta, y hay retención neta de nitrógeno en el cuerpo como proteína: **balance positivo de nitrógeno**. En respuesta a traumatismo o infección, o si la ingestión de proteína es inadecuada para satisfacer los requerimientos, hay pérdida neta de nitrógeno de proteína desde el cuerpo: **balance negativo de nitrógeno**. Salvo cuando se reemplazan las pérdidas de proteína, el equilibrio de nitrógeno puede mantenerse a cualquier nivel de ingestión de proteína por arriba de los requerimientos. Una ingestión alta de proteína no lleva a balance positivo de nitrógeno; aunque aumenta el índice de síntesis de proteína, también aumenta el índice de catabolismo de proteína, de modo que el equilibrio de nitrógeno se mantiene, aunque con un índice más alto de recambio de proteína. Tanto la síntesis de proteína como el catabolismo de la misma son costosos en lo que se refiere a ATP, y esta tasa aumentada de recambio de proteína explica el incremento de la termogénesis inducido por la dieta que se observa en personas que están consumiendo una dieta alta en proteína.

El catabolismo continuo de proteínas hísticas crea el requerimiento de proteína en la dieta, incluso en un adulto que no está creciendo; aunque algunos de los aminoácidos liberados se pueden reutilizar, gran parte se usa para la gluconeogénesis en el estado de ayuno. Estudios sobre el balance de nitrógeno muestran que el requerimiento diario promedio es de 0.66 g de proteína/kg de peso corporal (tomando un consumo de referencia de 0.825 g de proteína/kg de peso corporal permitido para variación individual), aproximadamente 55 g/día o 0.825% del ingreso de energía. Las ingestiones promedio de proteína en países desarrollados son del orden de 80 a 100 g/día, esto es, 14 a 15% del ingreso de energía. Dado que en los niños en crecimiento la proteína en el cuerpo está aumentando, tienen un requerimiento proporcionalmente mayor que los adultos, y deben estar en balance positivo de nitrógeno. Aun así, la necesidad es relativamente pequeña en comparación con el requerimiento para recambio de proteína. En algunos países, la ingestión de proteína es inadecuada para satisfacer estos requerimientos, lo que da por resultado cese del crecimiento. Hay poca o ninguna evidencia de que los atletas y los culturistas requieran grandes cantidades de proteína; simplemente consumir más de una dieta normal que proporcione alrededor de 14% de la energía a partir de proteína suministrará proteína más que suficiente para la síntesis aumentada de proteína muscular (el principal requerimiento es incremento de la ingestión de energía para permitir aumento de la síntesis de proteína).

Hay pérdida de proteína corporal en respuesta a traumatismo e infección

Una de las reacciones metabólicas a un traumatismo importante, como una quemadura, una fractura de una extremidad, o intervención quirúrgica, es un aumento del catabolismo neto de proteínas hísticas, en respuesta a citocinas y hormonas glucocorticoides, y como resultado de utilización excesiva de treonina y cisteína en la síntesis de **proteínas de fase aguda**. Hasta 6 a 7% de la proteína corporal total puede perderse al cabo de 10 días. El reposo prolongado en cama da por resultado pérdida considerable de proteína debido a atrofia de músculos. El catabolismo de proteína puede estar aumentado en respuesta a citocinas y sin el estímulo del ejercicio no se reemplaza por completo. La proteína perdida se reemplaza durante la **convalecencia**, cuando hay balance positivo de nitrógeno. Una dieta normal es adecuada para permitir este reemplazo. De nuevo, como sucede con los atletas, una dieta normal es suficiente para permitir esta síntesis de proteína de reemplazo.

El requerimiento no es sólo de la proteína, sino de aminoácidos específicos

No todas las proteínas son equivalentes desde el punto de vista nutricional. Se necesita una cantidad mayor de algunas que de otras para mantener el balance de nitrógeno porque diferentes proteínas contienen diferentes cantidades de los diversos aminoácidos. El requerimiento del cuerpo consta de aminoácidos en las proporciones correctas para reemplazar proteínas hísticas. Los aminoácidos pueden dividirse en dos grupos: **esenciales** y **no esenciales**. Hay nueve aminoácidos esenciales o indispensables, que no se pueden sintetizar en el cuerpo: histidina, isoleucina, leucina, glicina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Si uno de ellos falta o es inadecuado, al margen de la ingestión total de proteína, será imposible mantener el balance de nitrógeno, puesto que no habrá una cantidad suficiente de ese aminoácido para la síntesis de proteína.

Dos aminoácidos, la cisteína y tirosina, se pueden sintetizar en el cuerpo, pero sólo a partir de aminoácidos esenciales precursores, cisteína a partir de metionina, y tirosina a partir de fenilalanina. Las ingestiones de cisteína y tirosina en la dieta deben afectar los requerimientos de metionina y fenilalanina. Los 11 aminoácidos restantes en las proteínas se consideran no esenciales o dispensables, porque pueden sintetizarse en tanto haya proteína total suficiente en la dieta. Si se omite uno de estos aminoácidos de la dieta, aún puede mantenerse el balance de nitrógeno. Sin embargo, sólo tres aminoácidos: alanina, aspartato y glutamato, puede considerarse que son en verdad dispensables; se sintetizan a partir de intermediarios metabólicos comunes (piruvato, oxaloacetato y cetoglutarato, respectivamente). Los aminoácidos restantes se consideran no esenciales, pero en algunas circunstancias el requerimiento puede sobrepasar la capacidad de síntesis.

RESUMEN

- La digestión comprende hidrólisis de moléculas de alimento hacia moléculas de menor tamaño para absorción a través del epitelio gastrointestinal. Los polisacáridos se absorben como monosacáridos, los triacilgliceroles como 2-monoacilgliceroles, ácidos grasos y glicerol, y las proteínas como aminoácidos y pequeños péptidos.
- Los trastornos digestivos surgen como resultado de: 1) deficiencia enzimática, por ejemplo, lactasa y sacarasa; 2) malabsorción, por ejemplo, de glucosa y galactosa como resultado de defectos del cotransportador de Na^+-glucosa (SGLT 1); 3) absorción de polipéptidos no hidrolizados que lleva a respuestas inmunitarias, por ejemplo, en la enfermedad celiaca, y 4) precipitación de colesterol desde la bilis como cálculos biliares.
- Además de agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (carbohidratos y grasas) para el crecimiento y la actividad corporales, proteína para la síntesis de proteínas tisulares, fibra para dar volumen al contenido intestinal, minerales para funciones metabólicas específicas (capítulo 44), ácidos grasos poliinsaturados de las familias $n-3$ y $n-6$, y vitaminas (compuestos orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para otras funciones esenciales) (capítulo 44).
- La nutrición insuficiente ocurre en dos formas extremas: marasmo, en adultos y niños, y kwashiorkor en niños. La enfermedad crónica también puede llevar a nutrición insuficiente (caquexia) como resultado de hipermetabolismo.
- La sobrenutrición lleva a ingestión de energía excesiva y se asocia con enfermedades no transmisibles crónicas, como obesidad, diabetes tipo 2, aterosclerosis, cáncer e hipertensión.
- Se requieren 20 aminoácidos diferentes para la síntesis de proteína, nueve de los cuales son esenciales en la dieta del humano. La cantidad de proteína requerida puede determinarse mediante estudios del balance de nitrógeno y es afectada por la calidad de la proteína (las cantidades de aminoácidos esenciales presentes en las proteínas de la dieta, en comparación con las cantidades requeridas para la síntesis de proteína tisular).

REFERENCIAS

Bender DA: *Introduction to Nutrition and Metabolism,* 5th ed. CRC Press, 2014.

Bender DA, Bender AE: *Nutrition: A Reference Handbook*. Oxford University Press, 1997.

Fuller MF, Garllick PJ: Human amino acid requirements: can the controversy be resolved? Ann Rev Nutr 1994;14:217.

Geissler C, Powers HJ (editors): *Human Nutrition*, 12th ed. Elsevier, 2010.

Gibney MJ, Lanham-New S, Cassidy A, *et al*: *Introduction to Human Nutrition, The Nutrition Society Textbook Series*, 2nd ed. Wiley-Blackwell, 2009.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*. National Academies Press, 2002.

Pencharz PB, Ball RO: Different approaches to define individual amino acid requirements. Ann Rev Nutr 2003;23:101.

Royal College of Physicians: *Nutrition and Patients—A Doctor's Responsibility*. Royal College of Physicians, 2002.

Swallow DM: Genetic influences on carbohydrate digestion. Nutr Res Rev 2003;16:37.

World Health Organization Technical Report Series 894: *Obesity—Preventing and Managing the Global Epidemic*. WHO, 2000.

World Health Organization Technical Report Series 916: *Diet and the Prevention of Chronic Diseases*. WHO, 2003.

World Health Organization Technical report Series 935: *Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition*. WHO, 2007.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 44

Micronutrientes: vitaminas y minerales

David A. Bender, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir cómo se determinan las ingestiones de referencia para vitaminas y minerales, y explicar por qué las ingestiones de referencia publicadas por diferentes autoridades nacionales e internacionales difieren.
- Definir una vitamina y describir el metabolismo, las funciones principales, las enfermedades por deficiencia asociadas con ingestión insuficiente, y la toxicidad de las ingestiones excesivas de las vitaminas.
- Explicar por qué se requieren sales minerales en la dieta.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las vitaminats son un grupo de nutrientes orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para diversas funciones bioquímicas que, en general, no se pueden sintetizar en el organismo y, en consecuencia, deben encontrarse en la dieta.

Las vitaminas liposolubles son compuestos hidrofóbicos que sólo pueden absorberse con eficiencia cuando hay absorción normal de grasa. Al igual que otros lípidos, se transportan en la sangre en lipoproteínas o fijas a proteínas de unión específicas. Tienen diversas funciones; por ejemplo, vitamina A, visión y diferenciación celular; vitamina D, metabolismo del calcio y el fosfato, y diferenciación celular; vitamina E, antioxidante, y vitamina K, coagulación de la sangre. Al igual que la dieta insuficiente, las enfermedades o estados que afectan la digestión y absorción de las vitaminas liposolubles, como dieta muy baja en grasas, esteatorrea y trastornos del sistema biliar, pueden llevar a síndromes de deficiencia, entre ellos ceguera nocturna y xeroftalmía (vitamina A); raquitismo en niños de corta edad y osteomalacia en adultos (vitamina D); trastornos neurológicos y anemia hemolítica del recién nacido (vitamina E) y enfermedad hemorrágica del recién nacido (vitamina K). La toxicidad puede producirse por ingestión excesiva de vitaminas A y D. La vitamina A y los carotenos (muchos de los cuales son precursores de la vitamina A) y la vitamina E, son antioxidantes (capítulo 45) y tienen posibles funciones en la prevención de aterosclerosis y cáncer; sin embargo, el exceso de éstos también puede ocasionar prooxidación.

Las vitaminas hidrosolubles son las vitaminas B y C, ácido fólico, biotina y ácido pantoténico; funcionan principalmente como cofactores de enzimas. El ácido fólico actúa como un acarreador de unidades de un carbono. La deficiencia de una sola vitamina del complejo B es rara, dado que las dietas inadecuadas se relacionan más a menudo con **estados de deficiencia múltiple**. Sin embargo, los síndromes específicos son característicos de deficiencias de vitaminas individuales, por ejemplo, el beriberi (tiamina); queilosis, glositis, seborrea (riboflavina); pelagra (niacina); anemia megaloblástica, aciduria metilmalónica, y anemia perniciosa (vitamina B_{12}); anemia megaloblástica (ácido fólico) y escorbuto (vitamina C).

Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo deben hallarse en la dieta. Cuando la ingestión es insuficiente, pueden surgir signos de deficiencia, por ejemplo, anemia (hierro) y cretinismo y bocio (yodo). Las ingestiones excesivas pueden ser tóxicas.

La determinación de los requerimientos de micronutrientes depende de los criterios de suficiencia elegidos

Para cualquier nutriente, hay un rango de ingestiones entre la que es claramente inadecuada, lo que conduce a **enfermedad clínica por deficiencia**, y la que excede tanto la capacidad metabólica del organismo que puede haber signos de **toxicidad**. Entre estos dos extremos hay un nivel de ingestión que es adecuado para la salud normal y el mantenimiento de la integridad metabólica. Los requerimientos se determinan en estudios de agotamiento/repleción, en los cuales se priva a las personas del nutriente hasta que haya un cambio metabólico y después se repleta el nutriente hasta que se normaliza la anormalidad. No todos los individuos tienen el mismo requerimiento de nutrientes, incluso cuando se calcula con base en el tamaño del cuerpo o el gasto de energía. Hay una gama de requerimientos individuales de hasta 25% alrededor de la media. Por ende, para evaluar la suficiencia de las dietas, es necesario establecer un nivel de referencia de ingestión lo bastante alto como para asegurar que nadie sufra deficiencia ni tenga riesgo de toxicidad. Si se supone que los requerimientos

individuales están distribuidos de un modo estadísticamente normal alrededor del requerimiento medio observado, un rango de ± 2 × la desviación estándar (SD) alrededor de la media incluye los requerimientos de 95% de la población. Por consiguiente, las ingestiones de referencia o recomendadas se establecen en el requerimiento promedio más 2 × SD y, así, satisfacen o exceden los requerimientos de 97.5% de la población.

Las tablas de ingesta de referencia y recomendada de vitaminas y minerales publicadas por diferentes autoridades nacionales e internacionales (**cuadros 44-1** a **44-4**) difieren entre sí debido a diferentes interpretaciones de los datos disponibles y la disponibilidad de nuevos datos experimentales en las publicaciones que van saliendo a la luz.

LAS VITAMINAS SON UN GRUPO DISPAR DE COMPUESTOS CON DIVERSAS FUNCIONES METABÓLICAS

Una vitamina se define como un compuesto orgánico que se necesita en la dieta en pequeñas cantidades para el mantenimiento de la integridad metabólica normal. La deficiencia da por resultado una enfermedad específica, que sólo se cura o previene al restituir la vitamina a la dieta (**cuadro 44-5**). Empero, la **vitamina D**, que se forma en la piel a partir del 7-dehidrocolesterol en el momento de la exposición a la luz solar, y la **niacina**, que puede formarse a partir del aminoácido esencial triptófano, no satisfacen estrictamente esta definición.

VITAMINAS LIPOSOLUBLES

DOS GRUPOS DE COMPUESTOS TIENEN ACTIVIDAD DE VITAMINA A

Los retinoides comprenden el **retinol**, el **retinaldehído** y el **ácido retinoico** (vitamina A preformada, que sólo se encuentra en alimentos de origen animal); los carotenoides, que se encuentran en vegetales, constan de carotenos y compuestos relacionados; muchos son precursores de la vitamina A, puesto que se pueden dividir para dar retinaldehído, y después retinol y ácido retinoico (**figura 44-1**). Los α-, β- y γ- carotenos y la criptoxantina son desde el punto de vista cuantitativo los carotenoides provitamina A más importantes. El β-caroteno y otros carotenoides o provitamina A en se dividen en la mucosa intestinal por medio de la caroteno dioxigenasa, lo que da retinaldehído, que se reduce hacia retinol, se esterifica y secreta en quilomicrones junto con ésteres formados a partir del retinol de la dieta. La actividad intestinal de la caroteno dioxigenasa es baja, de manera que una proporción relativamente grande del β-caroteno ingerido puede aparecer en la circulación sin cambios. Hay dos isoenzimas de la caroteno dioxigenasa. Una cataliza la división del enlace central del betacaroteno; la otra cataliza la división asimétrica que lleva a la formación de 8′-, 10′- y 12′- apo-carotenales, que son oxidados a ácido retinoico, pero que no pueden usarse como fuentes de retinol o de retinaldehído.

Aunque parecería que una molécula de β-caroteno debe dar dos de retinol, esto no es así en la práctica; 6 μg de β-caroteno equivalen a 1 μg de retinol preformado. Por ende, la cantidad total de vitamina A en los alimentos se expresa como microgramos de equivalentes de retinol = μg de vitamina A preformada + 1/6 × μg de β-caroteno + 1/12 × μg de otros carotenoides provitamina A. Antes de que se dispusiera de vitamina A pura para análisis químicos, el contenido de vitamina A de los alimentos se determinaba mediante análisis biológico, y los resultados se expresaban como unidades internacionales (IU), 1 IU = 0.3 μg de retinol; 1 μg de retinol = 3.33 IU. Aunque son obsoletas, las IU a veces aún se usan en las etiquetas de los alimentos. En 2001 el reporte de The USA/Canadian Dietary Reference Values introdujo el término *equivalente de actividad de retinol* para tomar en cuenta la absorción y el metabolismo incompletos de los carotenoides; 1 RAE = 1 μg de holo-*trans*-retinol, 12 μg de β-caroteno, 24 μg de α-caroteno o β-criptoxantina. Con base en esto, una IU de actividad de vitamina a es igual a 3.6 μg de β-caroteno o 7.2 μg de otros carotenoides provitamina A.

La vitamina A tiene una función en la visión

En la retina, el retinaldehído funciona como el grupo prostético de proteínas opsina sensibles a la luz, lo que forma **rodopsina** (en bastones) y **iodopsina** (en conos). Cualquier célula de cono sólo contiene un tipo de opsina y es sensible a sólo un color. En el epitelio pigmentado de la retina, el todo-*trans*-retinol se isomeriza hacia 11-*cis*-retinol y se oxida hacia 11-*cis*-retinaldehído, el cual reacciona con un residuo lisina en la opsina, lo que forma la holoproteína rodopsina. La absorción de luz por la rodopsina origina isomerización del retinaldehído desde 11-*cis* hacia todo-*trans* y un cambio conformacional de la opsina (**figura 44-2**); esto causa la liberación de retinaldehído desde la proteína y el inicio de un impulso nervioso. La forma excitada inicial de la rodopsina, la batorrodopsina, se sintetiza en el transcurso de picosegundos luego de iluminación. Después hay una serie de cambios conformacionales que llevan a la formación de metarrodopsina II, que inicia una cascada de amplificación de nucleótido guanina y después un impulso nervioso. El paso final es la hidrólisis para liberar todo-*trans*-retinaldehído y opsina. La clave para el inicio del ciclo visual es la disponibilidad de 11-*cis*-retinaldehído y, en consecuencia, vitamina A. Cuando hay deficiencia, el tiempo que se requiere para adaptarse a la oscuridad está aumentado y hay menor capacidad para ver cuando hay poca luz.

El ácido retinoico participa en la regulación de la expresión de gen y en la diferenciación de tejido

Una función importante de la vitamina A yace en el control de la diferenciación y el recambio celulares. El ácido todo-*trans*-retinoico y el ácido 9-*cis*-retinoico (figura 44-1) regulan el crecimiento, el desarrollo y la diferenciación de tejido; tienen diferentes acciones en distintos tejidos. Al igual que las hormonas tiroideas y esteroides y la vitamina D, el ácido retinoico se une a receptores nucleares que se unen a elementos de respuesta del DNA y regulan la transcripción de genes específicos. Hay dos familias de receptores de retinoides nucleares: los receptores de ácido retinoico (RAR) se unen a ácidos todos-*trans*-retinoico

CUADRO 44-1 Ingesta de nutrientes de referencia de vitaminas y minerales, Reino Unido, 1991

Edad	Vit B_1 (mg)	Vit B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit B_6 (mg)	Vit B_{12} (µg)	Folato (µg)	Vit C (mg)	Vit A (µg)	Vit D (µg)	Ca (mg)	P (mg)	Mg (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Se (µg)	I (µg)
0 a 3 meses	0.2	0.4	3	0.2	0.3	50	25	350	8.5	525	400	55	1.7	4.0	0.2	10	50
4 a 6 meses	0.2	0.4	3	0.2	0.3	50	25	350	8.5	525	400	60	4.3	4.0	0.3	13	60
7 a 9 meses	0.2	0.4	4	0.3	0.4	50	25	350	7	525	400	75	7.8	5.0	0.3	10	60
10 a 12 meses	0.3	0.4	5	0.4	0.4	50	25	350	7	525	400	80	7.8	5.0	0.3	10	60
1 a 3 años	0.5	0.6	8	0.7	0.5	70	30	400	7	350	270	85	6.9	5.0	0.4	15	70
4 a 6 años	0.7	0.8	11	0.9	0.8	100	30	500	–	450	350	120	6.1	6.5	0.6	20	100
7 a 10 años	0.7	1.0	12	1.0	1.0	150	30	500	–	550	450	200	8.7	7.0	0.7	30	110
Varones									–								
11 a 14 años	0.9	1.2	15	1.2	1.2	200	35	600	–	1000	775	280	11.3	9.0	0.8	45	130
15 a 18 años	1.1	1.3	18	1.5	1.5	200	40	700	–	1000	775	300	11.3	9.5	1.0	70	140
19 a 50 años	1.0	1.3	17	1.4	1.5	200	40	700	–	700	550	300	8.7	9.5	1.2	75	140
Más de 50 años	0.9	1.3	16	1.4	1.5	200	40	700	10	700	550	300	8.7	9.5	1.2	75	140
Mujeres																	
11 a 14 años	0.7	1.1	12	1.0	1.2	200	35	600	–	800	625	280	14.8	9.0	0.8	45	130
15 a 18 años	0.8	1.1	14	1.2	1.5	200	40	600	–	800	6254	300	14.8	7.0	1.0	60	140
19 a 50 años	0.8	1.1	13	1.2	1.5	200	40	600	–	700	550	270	14.8	7.0	1.2	60	140
Más de 50 años	0.8	1.1	12	1.2	1.5	200	40	600	10	700	550	270	8.7	7.0	1.2	60	140
Embarazadas	+0.1	+0.3	–	–	–	+100	+10	+100	10	–	–	–					
En lactación	+0.1	+0.5	+2	–	+0.5	+60	+30	+350	10	+550	+440	+ 50		+6.0	+0.3	+15	

Fuente: Department of Health. *Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom* . HMSO, Londres, 1991.

CUADRO 44-2 Ingesta de referencia de vitaminas y minerales en la población, Unión Europea, 1993

Edad	Vit A (µg)	Vit B_1 (mg)	Vit B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit B_6 (mg)	Folato (µg)	Vit B_{12} (µg)	Vit C (mg)	Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Se (µg)	I (µg)
6 a 12 meses	350	0.3	0.4	5	0.4	50	0.5	20	400	300	6	4	0.3	8	50
1 a 3 años	400	0.5	0.8	9	0.7	100	0.7	25	400	300	4	4	0.4	10	70
4 a 6 años	400	0.7	1.0	11	0.9	130	0.9	25	450	350	4	6	0.6	15	90
7 a 10 años	500	0.8	1.2	13	1.1	150	1.0	30	550	450	6	7	0.7	25	100
Varones															
11 a 14 años	600	1.0	1.4	15	1.3	180	1.3	35	1000	775	10	9	0.8	35	120
15 a 17 años	700	1.2	1.6	18	1.5	200	1.4	40	1000	775	13	9	1.0	45	130
Más de 18 años	700	1.1	1.6	18	1.5	200	1.4	45	700	550	9	9.5	1.1	55	130
Mujeres															
11 a 14 años	600	0.9	1.2	14	1.1	180	1.3	35	800	625	18	9	0.8	35	120
15 a 17 años	600	0.9	1.3	14	1.1	200	1.4	40	800	625	17	7	1.0	45	130
Más de 18 años	600	0.9	1.3	14	1.1	200	1.4	45	700	550	16[1]	7	1.1	55	130
Embarazadas	700	1.0	1.6	14	1.3	400	1.6	55	700	550	[1]	7	1.1	55	130
En lactación	950	1.1	1.7	16	1.4	350	1.9	70	1200	950	16	12	1.4	70	160

Fuente: Scientific Committee for Food *Nutrient and energy intakes for the European Community* , Commission of the European Communities, Luxemburgo, 1993.
[1] No hay cifras determinadas para el consumo de hierro durante el embarazo.

CUADRO 44-3 **Raciones en la dieta recomendadas e ingesta aceptable para vitaminas y minerales, EU y Canadá, 1997-2001**

Edad	Vit A (µg)	Vit D (µg)	Vit E (mg)	Vit K (µg)	Vit B_1 (mg)	Vit B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit B_6 (mg)	Folato (µg)	Vit B_{12} (µg)	Vit C (mg)	Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Se (µg)	I (µg)
0 a 6 meses	400	5	4	2.0	0.2	0.3	2	0.1	65	0.4	40	210	100	–	2.0	200	15	110
7 a 12 meses	500	5	5	2.5	0.3	0.4	4	0.3	80	0.5	50	270	275	11	3	220	20	130
1 a 3 años	300	5	6	30	0.5	0.5	6	0.5	150	0.9	15	500	460	7	3	340	20	90
4 a 8 años	400	5	7	55	0.5	0.6	8	0.6	200	1.2	25	800	500	10	5	440	30	90
Varones																		
9 a 13 años	600	5	11	60	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	45	1300	1250	8	8	700	40	120
14 a 18 años	900	5	15	75	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	75	1300	1250	11	11	890	55	150
19 a 30 años	900	5	15	120	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	90	1000	700	8	11	900	55	150
31 a 50 años	900	5	15	120	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	90	1000	700	8	11	900	55	150
51 a 70 años	900	10	15	120	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	90	1200	700	8	11	900	55	150
> 70 años	900	15	15	120	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	90	1200	700	8	11	900	55	150
Mujeres																		
9 a 13 años	600	5	11	60	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	45	1300	1250	8	8	700	40	120
14 a 18 años	700	5	15	75	1.0	1.0	14	1.2	400	2.4	65	1300	1250	15	9	890	55	150
19 a 30 años	700	5	15	90	1.1	1.1	14	1.3	400	2.4	75	1000	700	18	8	900	55	150
31 a 50 años	700	5	15	90	1.1	1.1	14	1.3	400	2.4	75	1000	700	18	8	900	55	150
51 a 70 años	700	10	15	90	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	75	1200	700	8	8	900	55	150
> 70 años	700	15	15	90	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	75	1200	700	8	8	900	55	150
Embarazadas	770	5	15	90	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	85	1000	700	27	11	1000	60	220
En lactación	900	5	16	90	1.4	1.6	17	2.0	500	2.8	120	1000	700	9	12	1300	70	290

Las cifras para lactantes de menos de 12 meses son ingestas suficientes, basadas en la ingesta media observada de lactantes alimentados principalmente con leche materna; para nutrientes que no son vitamina K las cifras son RDA, basadas en el requerimiento promedio estimado + 2 SD; las cifras para vitamina K son ingestas adecuadas, con base en las ingestas promedio observadas.

Fuente: Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride, 1997; dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B_6, folate, vitamin B_{12}, pantothenic acid, biotin and choline, 1998; dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids, 2000; dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc, 2001, National Academy Press, Washington DC.

CUADRO 44-4 Ingesta de nutrientes recomendada para vitaminas, FAO 2001

Edad	Vit A (μg)	Vit D (μg)	Vit K (μg)	Vit B_1 (mg)	Vit B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit B_6 (mg)	Folato (μg)	Vit B_{12} (μg)	Vit C (mg)	Ácido pantoténico (mg)	Biotina (μg)
0 a 6 meses	375	5	5	0.2	0.3	2	0.1	80	0.4	25	1.7	5
7 a 12 meses	400	5	10	0.3	0.4	4	0.3	80	0.5	30	1.8	6
1 a 3 años	400	5	15	0.5	0.5	6	0.5	160	0.9	30	2.0	8
4 a 6 años	450	5	20	0.6	0.6	8	0.6	200	1.2	30	3.0	12
7 a 9 años	500	5	25	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	35	4.0	20
Varones												
10 a 18 años	600	5	35-55	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	40	5.0	30
19 a 50 años	600	5	65	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	45	5.0	30
50 a 65 años	600	10	65	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	45	5.0	30
> 65 años	600	15	65	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	45	5.0	30
Mujeres												
10 a 18 años	600	5	35-55	1.1	1.0	16	1.2	400	2.4	40	5.0	25
19 a 50 años	600	5	55	1.1	1.1	14	1.3	400	2.4	45	5.0	30
50 a 65 años	600	10	55	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	45	5.0	30
> 65 años	600	15	55	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	45	5.0	30
Embarazadas	800	5	55	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	55	6.0	30
En lactación	850	5	55	1.5	1.6	17	2.0	500	2.8	70	7.0	35

Fuente: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, *Human Vitamin and Mineral Requirements* , FAO, 2001.

CUADRO 44-5 Las vitaminas

Vitaminas		Funciones	Enfermedad por deficiencia
Liposolubles			
A	Retinol, β-caroteno	Pigmentos visuales en la retina; regulación de la expresión de gen y de la diferenciación celular (el β-caroteno es un antioxidante)	Ceguera nocturna, xeroftalmía; queratinización de la piel
D	Calciferol	Mantenimiento del equilibrio del calcio; aumenta la absorción intestinal de Ca^{2+} y moviliza el mineral óseo; regulación de la expresión de gen y de la diferenciación celular	Raquitismo = mineralización inadecuada de hueso; osteomalacia = desmineralización ósea
E	Tocoferoles, tocotrienoles	Antioxidante, especialmente en membranas celulares; papeles en la emisión de señales celulares	En extremo rara (disfunción neurológica grave)
K	Filoquinona: menaquinonas	Coenzima en la formación de γ-carboxiglutamato en enzimas de la coagulación de la sangre y de la matriz ósea	Alteración de la coagulación de la sangre, enfermedad hemorrágica
Hidrosolubles			
B_1	Tiamina	Coenzima en las piruvato y α-cetoglutarato deshidrogenasas y la transcetolasa; regula el canal de Cl^- en la conducción nerviosa	Daño de nervios periféricos (beriberi) o lesiones en el sistema nervioso central (síndrome de Wernicke-Korsakoff)
B_2	Riboflavina	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción (FAD y FMN); grupo prostético de flavoproteínas	Lesiones de los ángulos de la boca, los labios y la lengua, dermatitis seborreica
Niacina	Ácido nicotínico, nicotinamida	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción, parte funcional del NAD y el NADP; papel en la regulación de calcio intracelular y la emisión de señales celulares	Pelagra (dermatitis fotosensible, psicosis depresiva)
B_6	Piridoxina, piridoxal, piridoxamina	Coenzima en la transaminación y la descarboxilación de aminoácidos y glucógeno fosforilasa; modulación de la acción de hormona esteroide	Trastornos del metabolismo de aminoácidos, convulsiones
	Ácido fólico	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono	Anemia megaloblástica
B_{12}	Cobalamina	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono y el metabolismo del ácido fólico	Anemia perniciosa = anemia megaloblástica con degeneración de la médula espinal
	Ácido pantoténico	Parte funcional de la CoA y de la proteína transportadora de acilo; síntesis de ácidos grasos y metabolismo de los mismos	Daño de nervio periférico (melalgia nutricional o "síndrome del pie urente")
H	Biotina	Coenzima en reacciones de carboxilación en la gluconeogénesis y la síntesis de ácidos grasos; papel en la regulación del ciclo celular	Alteración del metabolismo de grasas y carbohidratos, dermatitis
C	Ácido ascórbico	Coenzima en la hidroxilación de prolina y lisina en la síntesis de colágeno; antioxidante; aumenta la absorción de hierro	Escorbuto (alteración de la cicatrización de heridas, pérdida del cemento dental, hemorragia subcutánea)

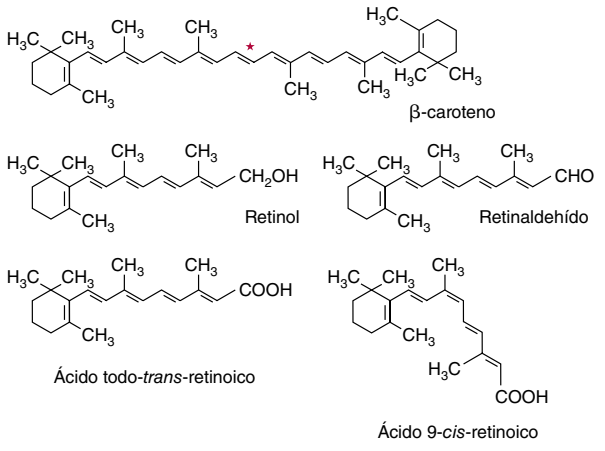


FIGURA 44-1 **β-caroteno y los principales vitámeros de la vitamina A.** El asterisco muestra el sitio de división del β-caroteno por la caroteno dioxigenasa, para dar retinaldehído.

o ácidos 9-*cis*-retinoico, y los receptores X retinoide (RXR) se unen al ácido 9-*cis*-retinoico. Asimismo, los receptores X retinoides forman dímeros con vitamina D, hormona tiroidea, y otros receptores de hormona de acción nuclear. La deficiencia de vitamina A altera la función de la vitamina D y la hormona tiroidea, debido a la falta de ácido 9-*cis*-retinoico para formar dímeros de receptor activos. Los receptores X de retinoide no ocupados forman dímeros con receptores de vitamina D y de hormona tiroidea ocupados, pero éstos no sólo no activan la expresión de gen, sino que pueden reprimirla, de modo que la deficiencia de vitamina A tiene un efecto más grave sobre la función de la vitamina D y la hormona tiroidea que el fracaso simple para activar la expresión de gen. La vitamina A en exceso también altera la función de la vitamina D y de la hormona tiroidea, debido a la formación de homodímeros RXR, lo que significa que no hay suficientes RXR disponibles para formar heterodímeros con los receptores de vitamina D y hormona tiroidea.

La deficiencia de vitamina A es un importante problema de salud pública en todo el mundo

La deficiencia de vitamina A es la más importante causa prevenible de ceguera. El signo más temprano de deficiencia es la pérdida de la sensibilidad a la luz verde, seguida por disminución de la capacidad para adaptarse a la luz tenue, y después ceguera nocturna, una incapacidad para ver en la oscuridad. La deficiencia más prolongada lleva a **xeroftalmía**: queratinización de la córnea y ceguera. La vitamina A también desempeña un importante papel en la diferenciación de las células del sistema inmunitario, e incluso la deficiencia leve lleva a susceptibilidad aumentada a enfermedades infecciosas. La síntesis de proteína transportadora de retinol, que se requiere para transportar la vitamina en el torrente sanguíneo, se reduce en respuesta a infección (es una **proteína de fase aguda** negativa), lo cual disminuye la concentración circulante de la vitamina, y altera más las respuestas inmunitarias.

El exceso de vitamina A es tóxico

La capacidad para metabolizar vitamina A es limitada y la ingestión excesiva lleva a acumulación más allá de la capacidad de las

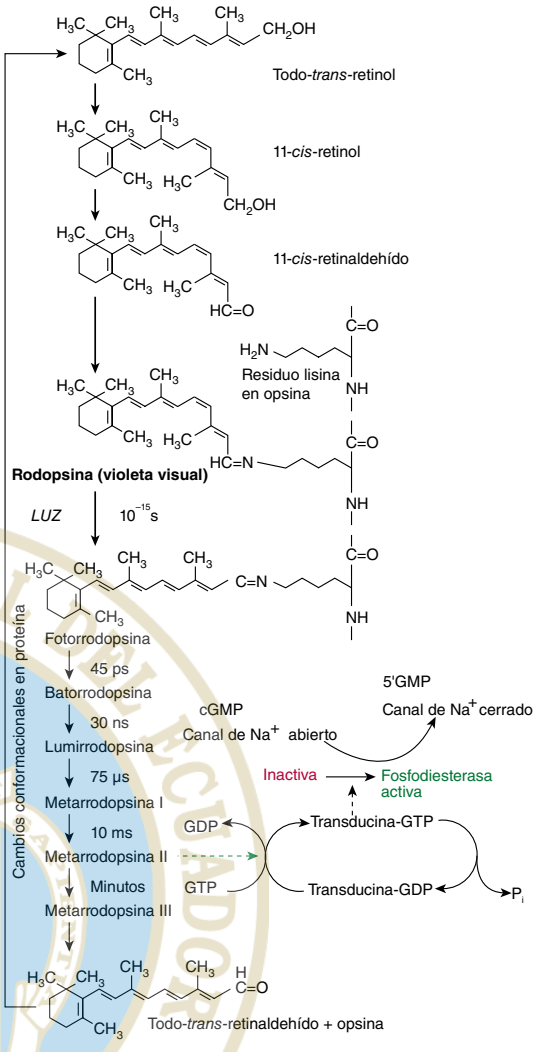


FIGURA 44-2 **La función del retinaldehído en el ciclo visual.**

proteínas de unión, de modo que la vitamina A no unida suscita daño de tejidos. Los síntomas de toxicidad afectan: el sistema nervioso central (cefalalgia, náuseas, ataxia y anorexia, todas relacionadas con aumento de la presión del líquido cefalorraquídeo), el hígado (hepatomegalia con cambios histológicos e hiperlipidemia), homeostasis del calcio (engrosamiento de los huesos largos, hipercalcemia y calcificación de tejidos blandos) y la piel (resequedad excesiva, descamación y alopecia).

LA VITAMINA D EN REALIDAD ES UNA HORMONA

La vitamina D no es estrictamente una vitamina, porque puede sintetizarse en la piel y en la mayor parte de las circunstancias ésa es la principal fuente de la vitamina; sólo cuando la exposición a la luz solar es inadecuada se necesita una fuente en la dieta. Su principal función es la regulación de la absorción y la homeostasis del calcio; la mayor parte de sus acciones están mediadas por receptores nucleares que regulan la expresión de gen. También participa en la regulación de la proliferación y diferenciación celulares. Hay evidencia de que las ingestiones mucho más altas que las requeridas para mantener la homeostasis del calcio

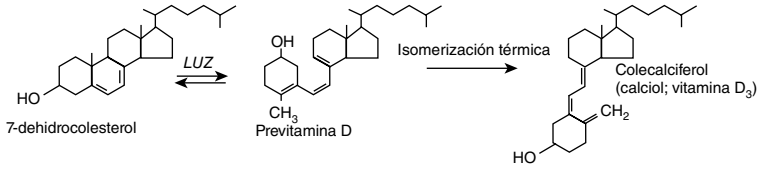


FIGURA 44-3 **La síntesis de vitamina D en la piel.**

aminoran el riesgo de resistencia a la insulina, obesidad y el síndrome metabólico, así como de diversos cánceres. La deficiencia, que conduce a raquitismo en niños y osteomalacia en adultos, aún es un problema en latitudes del Norte, donde la exposición a la luz solar es inadecuada.

La vitamina D se sintetiza en la piel

El 7-dehidrocolesterol (un intermediario en la síntesis de colesterol que se acumula en la piel) pasa por una reacción no enzimática en el momento de la exposición a luz ultravioleta, lo que da previtamina D (**figura 44-3**). Esta última pasa por una reacción adicional en un periodo de horas para formar colecalciferol, que se absorbe hacia el torrente sanguíneo. En climas templados, la concentración plasmática de vitamina D es más alta al final del verano, y más baja al final del invierno. Más allá de latitudes alrededor de 40° norte o sur hay muy poca radiación ultravioleta de la longitud de onda apropiada durante el invierno.

La vitamina D se metaboliza hacia el metabolito activo, calcitriol, en el hígado y los riñones

El colecalciferol, sea sintetizado en la piel o proveniente de los alimentos, pasa por dos hidroxilaciones para dar el metabolito activo, 1,25-dihidroxivitamina D o calcitriol (**figura 44-4**). El ergocalciferol proveniente de alimentos enriquecidos pasa por hidroxilación similar para dar ercalcitriol. En el hígado, el colecalciferol se hidroxila para formar el derivado 25-hidroxi, calcidiol, el cual se libera hacia la circulación unido a una globulina de unión a vitamina D, que es la principal forma de almacenamiento de la vitamina. En los riñones, el calcidiol pasa por 1-hidroxilación para producir el metabolito activo 1,25-dihidroxi-vitamina D (calcitriol), o 24-hidroxilación para originar un metabolito probablemente inactivo, la 24,25-dihidroxivitamina D (24-hidroxicalcidiol). Algunos tejidos, que no son los involucrados en la homeostasis del calcio, captan calcidiol desde la circulación y sintetizan calcitriol que actúa dentro de la célula en la cual se sintetizó.

El metabolismo de la vitamina D está regulado y regula la homeostasis del calcio

La principal función de la vitamina D yace en el control de la homeostasis del calcio y, a su vez, el metabolismo de la vitamina D está regulado por factores que muestran respuesta a las cifras plasmáticas de calcio y fosfato. El calcitriol actúa para reducir su propia síntesis al inducir la 24-hidroxilasa y reprimir la 1-hidroxilasa en los riñones. La principal función de la vitamina D es mantener la concentración plasmática de calcio. El calcitriol logra esto de tres maneras: incrementa la absorción intestinal de calcio; disminuye la excreción de calcio (al estimular la resorción en los túbulos renales distales) y moviliza mineral óseo. Además, el calcitriol participa en la secreción de insulina, la síntesis y secreción de hormonas paratiroidea y tiroidea, la inhibición de la producción de interleucina por linfocitos T activados y de inmunoglobulina por linfocitos B activados, la diferenciación de células precursoras de monocitos y la modulación de la proliferación celular. En casi todas estas acciones actúa como una hormona esteroide, al unirse a receptores nucleares y aumentar la expresión de gen, aunque también tiene efectos rápidos sobre transportadores de calcio en la mucosa intestinal.

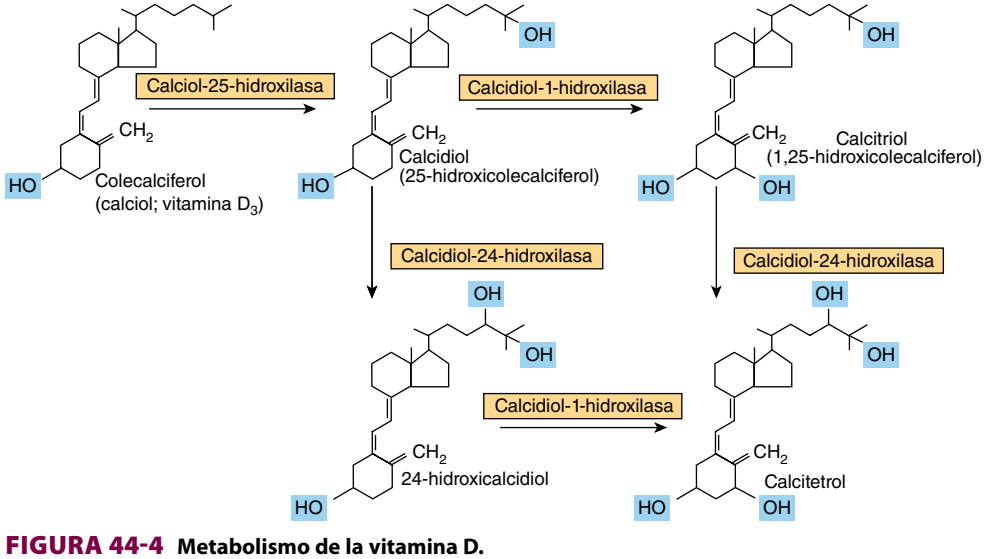


FIGURA 44-4 **Metabolismo de la vitamina D.**

La ingesta más alta de vitamina D puede ser beneficiosa

Cada vez hay más evidencia de que el estado más alto en cuanto a vitamina D es protector contra diversos cánceres, entre ellos cánceres de próstata y colorrectal, y contra prediabetes y el síndrome metabólico. Las magnitudes deseables de consumo tal vez sean considerablemente más altas que la ingesta de referencia actual y es muy factible que no sea posible satisfacerlas a partir de alimentos no enriquecidos. Si bien la exposición aumentada a la luz solar satisfaría la necesidad, esto conlleva el riesgo de aparición de cáncer cutáneo.

La deficiencia de vitamina D afecta a niños y adultos

En el estado de deficiencia de vitamina D, **raquitismo**, los huesos de los niños tienen mineralización insuficiente como resultado de absorción inadecuada de calcio. Suceden problemas similares como resultado de deficiencia durante el brote de crecimiento propio de la adolescencia. La **osteomalacia** en adultos se produce por la desmineralización de hueso, especialmente en mujeres que tienen poca exposición a la luz solar, en particular luego de varios embarazos. Aun cuando la vitamina D es esencial para la prevención y el tratamiento de osteomalacia en ancianos, hay poca evidencia de que sea beneficiosa en el tratamiento de **osteoporosis**.

La vitamina D en exceso es tóxica

Algunos lactantes son sensibles a ingestiones de vitamina D tan bajas como 50 µg/día, lo cual da por resultado una concentración plasmática alta de calcio. Esto puede llevar a contracción de vasos sanguíneos, presión arterial alta y **calcinosis** (la calcificación de tejidos blandos). Al menos en algunos casos, la hipercalcemia en respuesta a ingestión baja de vitamina D se debe a defectos genéticos de la calcidiol 24-hidroxilasa, la enzima que lleva a desactivación de la vitamina. Si bien el exceso de vitamina D en la dieta es tóxico, la exposición excesiva a la luz solar no da pie a intoxicación por vitamina D, porque hay una capacidad limitada para formar el precursor, 7-dehidrocolesterol y la exposición prolongada de la previtamina D a la luz solar lleva a la formación de compuestos inactivos.

LA VITAMINA E NO TIENE UNA FUNCIÓN METABÓLICA DEFINIDA CON PRECISIÓN

No se ha definido una función singular inequívoca para la vitamina E. Actúa como un **antioxidante** liposoluble en membranas celulares, donde muchas de sus funciones pueden ser proporcionadas por antioxidantes sintéticos, y tiene importancia en el mantenimiento de la fluidez de las membranas celulares. También tiene una participación (hasta cierto punto poco definida) en la emisión de señales celulares. Vitamina E es el término descriptivo genérico para dos familias de compuestos, los **tocoferoles** y los **tocotrienoles** (**figura 44-5**). Los diferentes vitámeros tienen distinta potencia biológica; el más activo es el D-α-tocoferol, y es usual expresar la ingestión de vitamina E en términos de miligramos de equivalentes de D-α-tocoferol. El tocoferol DL-α-sintético no tiene la misma potencia biológica que el compuesto natural.

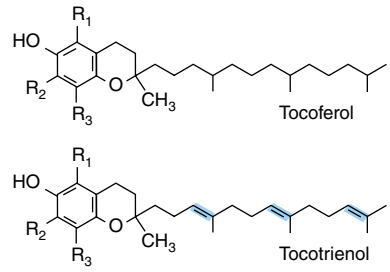


FIGURA 44-5 Vitámeros de la vitamina E. En el α-tocoferol y el tocotrienol R_1, R_2 y R_3 son grupos —CH_3. En los β-vitámeros R_2 es H, en los γ-vitámeros R_1, es H, y en los δ-vitámeros tanto R_1 como R_2 son H.

La vitamina E es el principal antioxidante liposoluble en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas

La principal función de la vitamina E es como un antioxidante que rompe cadenas y que atrapa radicales libres en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas al reaccionar con los radicales peróxido lípido formados por peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados (capítulo 45). El producto radical tocoferoxilo es relativamente no reactivo, y finalmente forma compuestos no radicales. Por lo común el radical tocoferoxilo se reduce de regreso hacia tocoferol mediante reacción con vitamina C proveniente del plasma (**figura 44-6**). El radical monodesoxiascorbato resultante después pasa por reacción enzimática o no enzimática para dar ascorbato y dehidroascorbato, ninguno de los cuales es un radical.

Deficiencia de vitamina E

En animales de experimentación, la deficiencia de vitamina E ocasiona resorción de fetos y atrofia testicular. La deficiencia de vitamina E en la dieta en seres humanos se desconoce, aunque los pacientes con malabsorción grave de grasas, fibrosis quística y algunas formas de enfermedad crónica del hígado sufren deficiencia porque son incapaces de absorber la vitamina o de transportarla, y muestran daño de membrana de nervios y músculos. Los prematuros nacen con reservas inadecuadas de la vitamina. Las membranas de los eritrocitos son anormalmente frágiles como resultado de peroxidación de lípidos, lo que conduce a anemia hemolítica.

LA VITAMINA K SE REQUIERE PARA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE COAGULACIÓN DE LA SANGRE

La vitamina K se descubrió como resultado de investigaciones sobre la causa de un trastorno hemorrágico, la enfermedad hemorrágica (por trébol de olor) del ganado vacuno y de pollos alimentados con una dieta sin grasa. El factor faltante en la dieta de los pollos fue la vitamina K, mientras que el alimento del ganado vacuno contenía **dicumarol**, un antagonista de la vitamina. Los antagonistas de la vitamina K se usan para reducir la coagulación

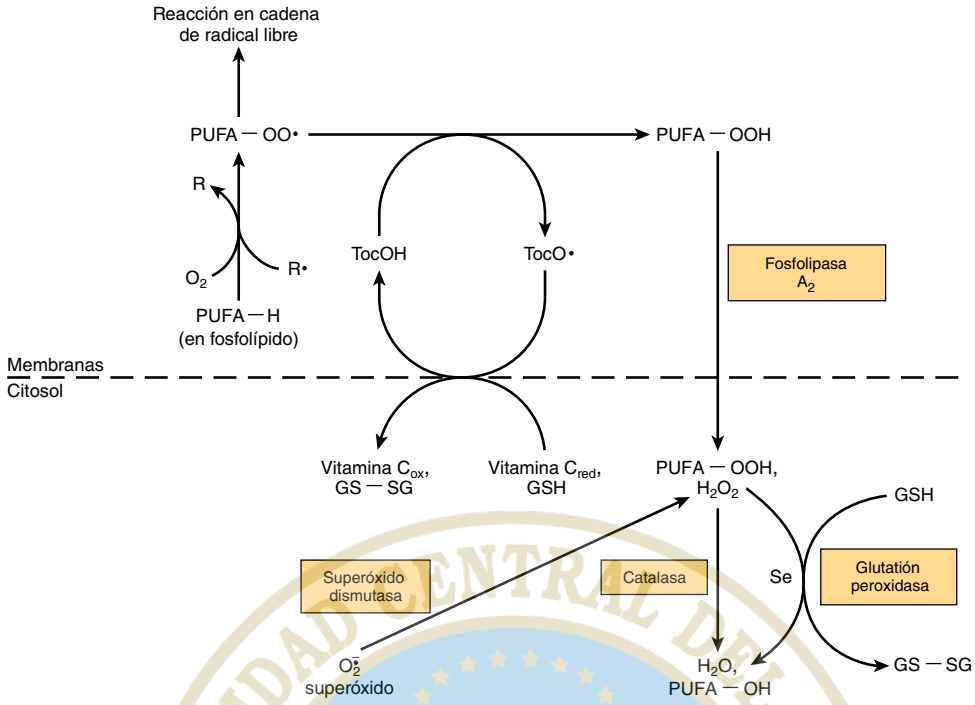
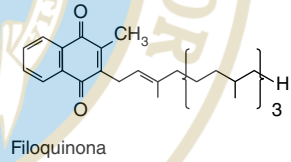


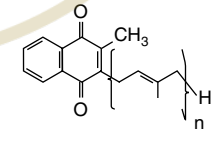
FIGURA 44-6 **Interacción entre antioxidantes en la fase lípida (membranas celulares) y la fase acuosa (citosol).** (R•, radical libre; PUFA-OO•, radical peroxilo de ácido graso poliinsaturado en fosfolípido de membrana; PUFA-OOH, ácido graso poliinsaturado hidroxiperoxi en fosfolípido de membrana, liberado hacia el citosol como ácido graso poliinsaturado hidroxiperoxi por medio de la acción de la fosfolipasa A_2; PUFA-OH, ácido graso poliinsaturado hidroxi; Toc-OH vitamina E α-tocoferol; TocO•, radical tocoferoxilo; Se, selenio; GSH, glutatión reducido; GS-SG, glutatión oxidado, que se reduce a GSH después de reacción con NADPH, catalizada por la glutatión reductasa; PUFA-H, ácido graso poliinsaturado).

de la sangre en quienes tienen riesgo de trombosis; el de uso más amplio es la **warfarina**.

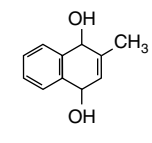
Tres compuestos tienen la actividad biológica de la vitamina K (**figura 44-7**): **filoquinona**, la fuente normal en la dieta, que se encuentra en verduras de color verde; **menaquinonas**, sintetizadas por las bacterias intestinales, con longitudes de cadena larga que difieren, y **menadiona** y diacetato de menadiol, compuestos sintéticos que pueden metabolizarse hacia filoquinona. Las menaquinonas se absorben hasta cierto grado, pero no está claro hasta qué punto tienen actividad biológica dado que es posible inducir signos de deficiencia de vitamina K simplemente al suministrar una dieta con deficiencia de filoquinona, sin inhibir la acción bacteriana intestinal.



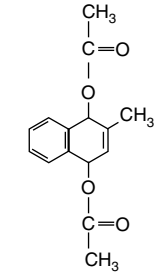
Filoquinona



Menaquinona



Menadiol



Diacetato de menadiol (acetomenaftona)

La vitamina K es la coenzima para la carboxilación de glutamato en la modificación postsintética de proteínas de unión a calcio

La vitamina K es el cofactor para la carboxilación de residuos glutamato en la modificación postsintética de proteínas para formar el aminoácido poco común γ-carboxiglutamato (Gla) (**figura 44-8**). Inicialmente, la vitamina K hidroquinona se oxida hacia el epóxido, que activa un residuo glutamato en el sustrato proteínico hacia un carbanión, que reacciona de modo no enzimático con dióxido de carbono para formar γ-carboxiglutamato. La vitamina K epóxido se reduce hacia la quinona por medio de una reductasa sensible a warfarina, y la quinona se reduce hacia la hidroquinona activa mediante la misma reductasa sensible a warfarina o una quinona reductasa insensible a warfarina. En presencia de warfarina es imposible reducir la vitamina K

FIGURA 44-7 **Los vitámeros de la vitamina K.** El menadiol (o menadiona) y el diacetato de menadiol son compuestos sintéticos que se convierten en menaquinona en el hígado.

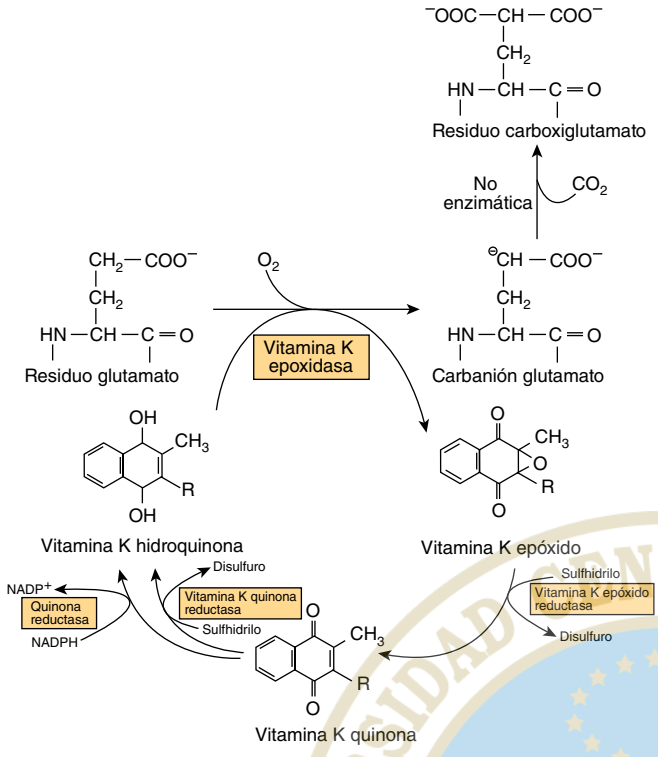


FIGURA 44-8 **Función de la vitamina K en la síntesis de γ-carboxiglutamato.**

epóxido, pero se acumula y se excreta. Si se proporciona suficiente vitamina K (como la quinona) en la dieta, puede reducirse hacia la hidroquinona activa por medio de la enzima insensible a warfarina, y la carboxilación puede continuar, con utilización estequiométrica de vitamina K y excreción del epóxido. Una dosis alta de vitamina K es el antídoto para una sobredosis de warfarina.

La protrombina y varias otras proteínas del sistema de coagulación de la sangre (factores VIII, IX y X, y proteínas C y S, capítulo 52) contienen, cada una, de 4 a 6 residuos γ-carboxiglutamato. El γ-carboxiglutamato produce quelación de iones de calcio y, de esta manera, permite la unión de las proteínas de la coagulación de la sangre a membranas. En la deficiencia de vitamina K, o en presencia de warfarina, se libera hacia la circulación un precursor anormal de la protrombina (preprotrombina) que contiene poco γ-carboxiglutamato o no lo contiene, y que es incapaz de quelar calcio.

La vitamina K también es importante en la síntesis de hueso y otras proteínas de unión a calcio

Varias otras proteínas pasan por la misma carboxilación (dependiente de vitamina K) de glutamato hacia γ-carboxiglutamato, incluso osteocalcina y la proteína Gla de la matriz en el hueso, la nefrocalcina en el riñón y el producto del gen específico para el paro del crecimiento Gas6, que está involucrado en la regulación tanto de la diferenciación como del desarrollo del sistema nervioso, y el control de la apoptosis en otros tejidos. Todas estas proteínas que contienen γ-carboxiglutamato se unen al calcio, lo que causa un cambio conformacional de modo que interactúan con fosfolípidos de membrana. La liberación de osteocalcina hacia la circulación proporciona un índice del estado en cuanto a vitamina D.

VITAMINAS HIDROSOLUBLES

LA VITAMINA B_1 (TIAMINA) TIENE UNA FUNCIÓN CLAVE EN EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

La **tiamina** tiene una función esencial en el metabolismo que genera energía, especialmente en el metabolismo de carbohidratos (**figura 44-9**). El **difosfato de tiamina** es la coenzima para tres complejos de múltiples enzimas que catalizan reacciones de descarboxilación oxidativa: piruvato deshidrogenasa en el metabolismo de carbohidratos (capítulo 17); α-cetoglutarato deshidrogenasa en el ciclo del ácido cítrico (capítulo 16), y la cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa que participa en el metabolismo de la leucina, isoleucina y valina (capítulo 29). En cada caso, el difosfato de tiamina proporciona un carbono reactivo en la parte triazol que forma un carbanión, que luego se agrega al grupo carbonilo, por ejemplo piruvato. El compuesto añadido a continuación se descarboxila, con lo que se elimina CO_2. El difosfato de tiamina también es la coenzima para la transcetolasa, en la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20).

El trifosfato de tiamina participa en la conducción nerviosa; fosforila y, de esta manera, activa, un canal de cloruro en la membrana del nervio.

La deficiencia de tiamina afecta el sistema nervioso y el corazón

La deficiencia de tiamina puede dar por resultado tres síndromes: una neuritis periférica crónica, el **beriberi**, que puede o no mostrar vínculo con **insuficiencia cardíaca** y **edema**; beriberi pernicioso agudo (fulminante) (beriberi cardiovascular agudo [shoshin-beriberi]), en el cual predominan la insuficiencia cardíaca y anormalidades metabólicas, sin neuritis periférica, y **encefalopatía de Wernicke** con **psicosis de Korsakoff**, que se relacionan en particular con el abuso del consumo de alcohol y narcóticos. La función del difosfato de tiamina en la piruvato deshidrogenasa significa que cuando hay deficiencia se observa conversión alterada de piruvato en acetil CoA. En sujetos que

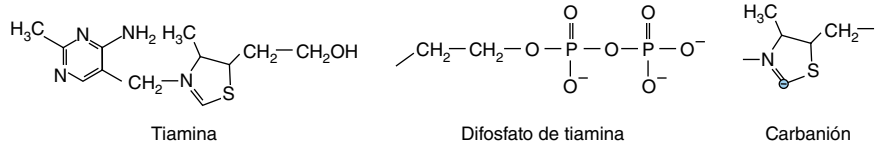


FIGURA 44-9 **Tiamina, difosfato de tiamina y la forma carbanión.**

consumen una dieta con contenido relativamente alto de carbohidratos, esto origina incremento de las concentraciones plasmáticas de lactato y piruvato, lo cual puede causar **acidosis láctica** que pone en peligro la vida.

El estado nutricional en cuanto a tiamina puede evaluarse mediante la activación de la transcetolasa de eritrocitos

La activación de la apo-transcetolasa (la proteína enzima) en lisado de eritrocito por medio de difosfato de tiamina añadido *in vitro* se ha convertido en el índice aceptado del estado nutricional en cuanto a tiamina.

LA VITAMINA B_2 (RIBOFLAVINA) TIENE UNA PARTICIPACIÓN FUNDAMENTAL EN EL METABOLISMO QUE GENERA ENERGÍA

La riboflavina proporciona las porciones reactivas de las coenzimas **flavín mononucleótido (FMN)** y **flavín adenina dinucleótido (FAD)** (**figura 44-10**). El FMN se forma mediante fosforilación de riboflavina dependiente de ATP, mientras que el FAD se sintetiza por medio de reacción adicional con ATP en la cual su porción AMP se transfiere a FMN. Las principales fuentes de riboflavina en la dieta son la leche y los productos lácteos. Además, debido a su intenso color amarillo, la riboflavina se utiliza ampliamente como un aditivo de alimentos.

Las coenzimas de flavina son acarreadores de electrones en reacciones de oxidorreducción

Incluyen la cadena respiratoria mitocondrial, enzimas clave en la oxidación de ácidos grasos y aminoácidos, y el ciclo del ácido cítrico. La reoxidación de la flavina reducida en oxigenasas y oxidasas de función mixta procede mediante la formación del radical flavina, y flavín hidroperóxido, con la generación intermedia de radicales superóxido y perhidroxilo, y peróxido de hidrógeno. Debido a esto, las flavín oxidasas hacen una contribución importante al estrés oxidante total en el cuerpo (capítulo 45).

La deficiencia de riboflavina está difundida pero no es mortal

Aun cuando la riboflavina tiene una participación fundamental en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, y su deficiencia ocurre en muchos países, no es mortal, porque hay conservación muy eficiente de la riboflavina hística. La riboflavina liberada por el metabolismo de enzimas se incorpora con rapidez hacia enzimas recién sintetizadas. La deficiencia se caracteriza por queilosis, descamación e inflamación de la lengua, y una dermatitis seborreica. El estado nutricional en cuanto a riboflavina se evalúa al medir la activación de la glutatión reductasa de los eritrocitos por FAD añadido *in vitro.*

LA NIACINA NO ES ESTRICTAMENTE UNA VITAMINA

La niacina se descubrió como un nutriente durante estudios de **pelagra.** No es estrictamente una vitamina porque puede sintetizarse en el organismo a partir del aminoácido esencial triptófano. Dos compuestos, el **ácido nicotínico** y la **nicotinamida**, tienen la actividad biológica de niacina; su función metabólica es como el anillo nicotinamida de las coenzimas **NAD** y **NADP** en reacciones de oxidación/reducción (**figura 44-11**). Unos 60 mg de triptófano equivalen a 1 mg de niacina en la dieta. El contenido de niacina de los alimentos se expresa como:

Miligramos de equivalentes de niacina = miligramos de niacina preformada + 1/60 × miligramos de triptófano

Debido a que la mayor parte de la niacina en cereales no está disponible biológicamente, dicho contenido no se toma en cuenta.

El NAD es la fuente de ADP-ribosa

Además de su función como coenzima, el NAD es la fuente de ADP-ribosa para la **ADP-ribosilación** de proteínas y poliADP-ribosilación de nucleoproteínas involucradas en el **mecanismo de reparación de DNA**. El ADP-ribosa cíclico y el ácido nicotínico adenina dinucleótido, que se forma a partir de NAD, actúan para aumentar el calcio intracelular en respuesta a neurotransmisores y hormonas.

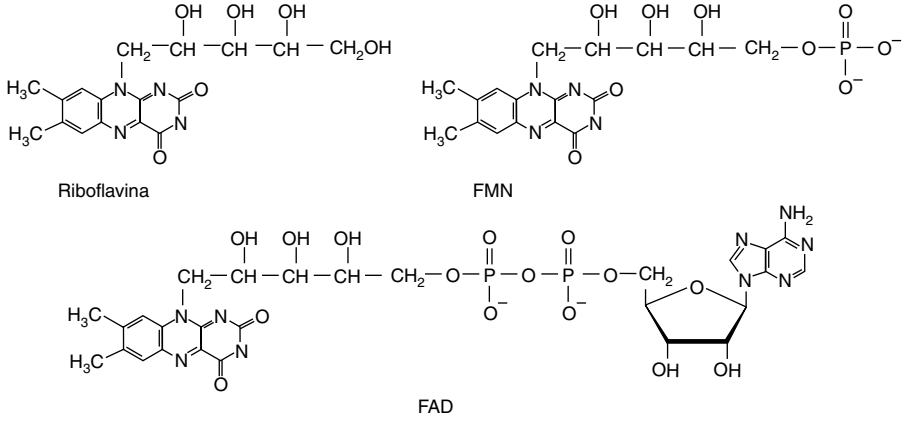


FIGURA 44-10 **Riboflavina y las coenzimas flavín mononucleótido (FMN) y flavín adenina dinucleótido (FAD).**



Niacina (ácido nicotínico y nicotinamida). Véase también la figura 7-2

FIGURA 44-11 Niacina (ácido nicotínico y nicotinamida).

La pelagra se produce por deficiencia de triptófano y niacina

La pelagra se caracteriza por una dermatitis fotosensible. Conforme progresa la enfermedad, hay demencia y posiblemente diarrea. La pelagra no tratada es mortal. Si bien la causa nutricional de la pelagra se encuentra bien establecida, y el triptófano o la niacina evita la enfermedad o la cura, pueden tener importancia otros factores, entre ellos la deficiencia de riboflavina o vitamina B_6, ambas necesarias para la síntesis de nicotinamida a partir del triptófano. En casi todos los brotes de pelagra, el número de mujeres afectadas es dos veces mayor que el de varones, probablemente como resultado de inhibición del metabolismo del triptófano por metabolitos de estrógeno.

La pelagra puede ocurrir como enfermedad a pesar de una ingesta adecuada de triptófano y niacina

Varias enfermedades genéticas que producen defectos del metabolismo del triptófano muestran vínculo con la aparición de pelagra, pese a una ingestión al parecer normal tanto de triptófano como de niacina. La **enfermedad de Hartnup** es un padecimiento genético raro en el cual hay un defecto del mecanismo de transporte de membrana para el triptófano, lo que ocasiona pérdidas grandes por malabsorción intestinal y fracaso del mecanismo de resorción renal. En el **síndrome carcinoide** hay metástasis de un tumor hepático primario de células enterocromafines, que sintetizan 5-hidroxitriptamina. La producción excesiva de 5-hidroxitriptamina puede explicar hasta 60% del metabolismo de triptófano en el cuerpo, y causa pelagra debido a desviación en dirección contraria a la síntesis de NAD.

La niacina en exceso es tóxica

El ácido nicotínico se ha usado para tratar hiperlipidemia, cuando se requiere del orden de 1 a 6 g/día, lo que da por resultado dilatación de vasos sanguíneos y rubor, junto con irritación de la piel. La ingestión tanto de ácido nicotínico como de nicotinamida de más de 500 mg/día también origina daño hepático.

LA VITAMINA B_6 ES IMPORTANTE EN EL METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS Y GLUCÓGENO, Y EN LA ACCIÓN DE HORMONA ESTEROIDE

Seis compuestos tienen actividad de vitamina B_6 (**figura 44-12**): **piridoxina**, **piridoxal**, **piridoxamina** y sus 5′-fosfatos. La coenzima activa es el piridoxal 5′-fosfato. Alrededor de 80% de la vitamina B_6 total del organismo es fosfato de piridoxal en el músculo, en su mayor parte relacionado con glucógeno fosforilasa. Esto no se encuentra disponible cuando hay deficiencia, pero se libera en

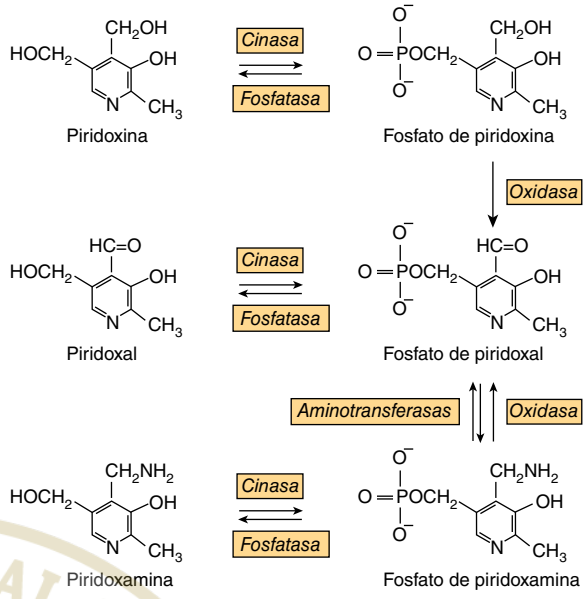


FIGURA 44-12 Interconversión de vitámeros de la vitamina B_6.

presencia de inanición, cuando las reservas de glucógeno quedan agotadas, y entonces está disponible, especialmente en el hígado y los riñones, para satisfacer el requerimiento incrementado de gluconeogénesis a partir de aminoácidos.

La vitamina B_6 tiene varias funciones en el metabolismo

El fosfato de piridoxal es una coenzima para muchas enzimas involucradas en el metabolismo de aminoácidos, en particular transaminación y descarboxilación. Asimismo, es el cofactor de la glucógeno fosforilasa, en la cual el grupo fosfato tiene importancia desde el punto de vista catalítico. Más aún, la vitamina B_6 es importante en la acción de hormonas esteroides. El fosfato de piridoxal elimina el complejo de hormona-receptor desde unión a DNA, lo que termina la acción de las hormonas. En la deficiencia de vitamina B_6 hay aumento de la sensibilidad a las acciones de cifras bajas de estrógenos, andrógenos, cortisol y vitamina D.

La deficiencia de vitamina B_6 es rara

Aunque la enfermedad clínica por deficiencia es rara, hay evidencia de que una proporción importante de la población tiene un estado marginal de la vitamina B_6. La deficiencia moderada causa anormalidades del metabolismo del triptófano y la metionina. La sensibilidad incrementada a la acción de hormona esteroide puede ser importante en la aparición de **cáncer dependiente de hormona** de la mama, el útero y la próstata, y el estado en cuanto a vitamina B_6 puede afectar el pronóstico.

El estado en cuanto a vitamina B_6 se evalúa por medio de evaluación de las transaminasas de eritrocito

El método que se usa más ampliamente para evaluar el estado en cuanto a vitamina B_6 es mediante la activación de transaminasas de eritrocito por medio de fosfato de piridoxal añadido *in vitro*, lo que se expresa como el coeficiente de activación. También se

emplea la medición de las concentraciones en plasma de esta vitamina.

La vitamina B_6 en exceso suscita neuropatía sensitiva

Se ha informado neuropatía sensitiva en individuos que han tomado 2 a 7 g de piridoxina al día por diversas razones (hay alguna evidencia leve de que es eficaz para tratar **síndrome premenstrual**). Hubo cierto daño residual después de eliminación de estas dosis altas; otros informes sugieren que las ingestiones de más de 100 a 200 mg/día muestran vínculo con daño neurológico.

LA VITAMINA B_{12} SÓLO SE ENCUENTRA EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

El término "vitamina B_{12}" se usa como un término descriptivo genérico para las **cobalaminas,** los **corrinoides** (compuestos que contienen cobalto y que poseen el anillo corrina) que tienen la actividad biológica de la vitamina (**figura 44-13**). Algunos corrinoides que son factores de crecimiento para microorganismos no sólo carecen de actividad de vitamina B_{12}, sino que también pueden ser antimetabolitos de la vitamina. Aun cuando se sintetiza de modo exclusivo por microorganismos, para propósitos prácticos la vitamina B_{12} sólo se encuentra en alimentos de origen animal; no hay fuentes vegetales de esta vitamina. Esto significa que los vegetarianos estrictos (veganos) tienen riesgo de presentar deficiencia de vitamina B_{12}. Las pequeñas cantidades de vitamina formadas por las bacterias sobre la superficie de frutas pueden ser adecuadas para satisfacer los requerimientos, pero se dispone de preparaciones de vitamina B_{12} fabricadas mediante fermentación bacteriana.

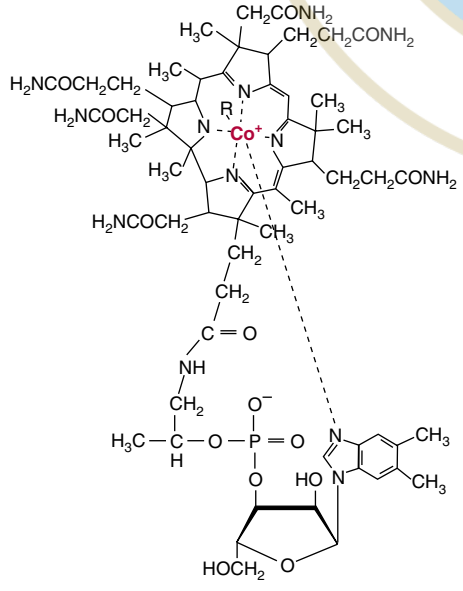


FIGURA 44-13 Vitamina B_{12}. Cuatro sitios de coordinación en el átomo de cobalto central son quelados por los átomos de nitrógeno del anillo corrina, y uno por el nitrógeno del nucleótido dimetilbenzimidazol. El sexto sitio de coordinación puede estar ocupado por: CN^- (cianocobalamina), OH^- (hidroxocobalamina), H_2O acuocobalamina, $—CH_3$ (metil cobalamina o 5′-desoxiadenosina [adenosilcobalamina]).

La absorción de vitamina B_{12} necesita dos proteínas de unión

La vitamina B_{12} se absorbe unida a **factor intrínseco**, una pequeña glucoproteína secretada por las células parietales de la mucosa gástrica. El ácido gástrico y la pepsina liberan la vitamina desde unión a proteína en los alimentos, y hacen que esté disponible para unirse a la **cobalofilina**, una proteína de unión secretada en la saliva. En el duodeno, la cobalofilina se hidroliza, lo que libera la vitamina para unión a factor intrínseco. Por ende, la **insuficiencia pancreática** puede ser un factor en la aparición de deficiencia de vitamina B_{12}, lo que produce la excreción de vitamina B_{12} unida a cobalofilina. El factor intrínseco sólo se une a los vitámeros de vitamina B_{12} activos, y no a otros corrinoides. La vitamina B_{12} se absorbe a partir del tercio distal del íleon por medio de receptores que se unen al complejo de vitamina B_{12}-factor intrínseco, pero no al factor intrínseco libre ni a la vitamina libre. Hay considerable circulación enterohepática de vitamina B_{12}, con excreción en la bilis, y después resorción luego de unión a factor intrínseco en el íleon.

Hay dos enzimas dependientes de vitamina B_{12}

La **metilmalonil CoA mutasa**, **leucina aminomutasa** y **metionina sintasa** (**figura 44-14**) son enzimas dependientes de la vitamina B_{12}. La metilmalonil CoA se forma como un intermediario en el catabolismo de la valina y mediante la carboxilación de propionil CoA que surge en el catabolismo de la isoleucina, el colesterol y, rara vez, ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono o de manera directa a partir del propionato, un producto importante de la fermentación microbiana en el rumen. Pasa por un reordenamiento (dependiente de vitamina B_{12}) hacia succinil CoA, catalizado por la metilmalonil CoA mutasa (figura 19-2). La actividad de esta enzima se encuentra muy reducida en la deficiencia de vitamina B_{12}, lo que da pie a una acumulación de metilmalonil CoA y excreción urinaria de ácido metilmalónico, que proporciona un medio de evaluar el estado nutricional en cuanto a vitamina B_{12}.

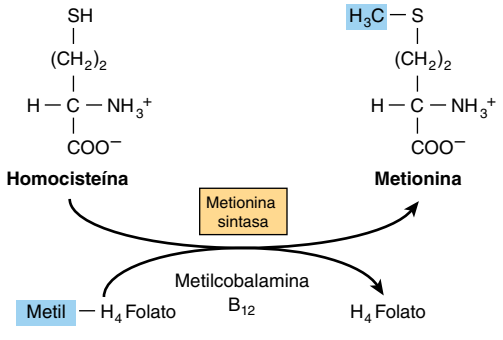


FIGURA 44-14 Homocisteína y la "trampa de folato". La deficiencia de vitamina B_{12} conduce a deterioro de la metionina sintasa, lo que produce acumulación de homocisteína y atrapamiento de folato como metiltetrahidrofolato.

La deficiencia de vitamina B_{12} ocasiona anemia perniciosa

La anemia perniciosa surge cuando la deficiencia de vitamina B_{12} altera el metabolismo del ácido fólico, lo que lleva a deficiencia de folato funcional que altera la eritropoyesis, y hace que se liberen precursores inmaduros de eritrocitos hacia la circulación (anemia megaloblástica). La causa más frecuente de la anemia perniciosa es el fracaso de la absorción de vitamina B_{12} más que deficiencia en la dieta. Esto puede ser el resultado del fracaso de la secreción de factor intrínseco causada por enfermedad autoinmunitaria que afecta las células parietales, o por producción de anticuerpos antifactor intrínseco. En la anemia perniciosa hay degeneración irreversible de la médula espinal como resultado de fracaso de la metilación de un residuo arginina sobre la proteína básica de mielina. Esto es el resultado de deficiencia de metionina en el sistema nervioso central, más que de deficiencia de folato secundaria.

HAY MÚLTIPLES FORMAS DE FOLATO EN LA DIETA

La forma activa del ácido fólico (pteroil glutamato) es el tetrahidrofolato (**figura 44-15**). Los folatos en los alimentos pueden tener hasta siete residuos glutamato adicionales enlazados por medio de enlaces γ-peptídicos. Además, todos los folatos con sustitución de un carbono en la figura 44-15 también pueden estar presentes en los alimentos. El grado al cual las diferentes formas de folato pueden absorberse es variable, y las ingestiones de folato se calculan como equivalentes de folato en la dieta (la suma de microgramos de folatos en los alimentos + 1.7 × μg de ácido fólico [usado en el enriquecimiento de alimento]).

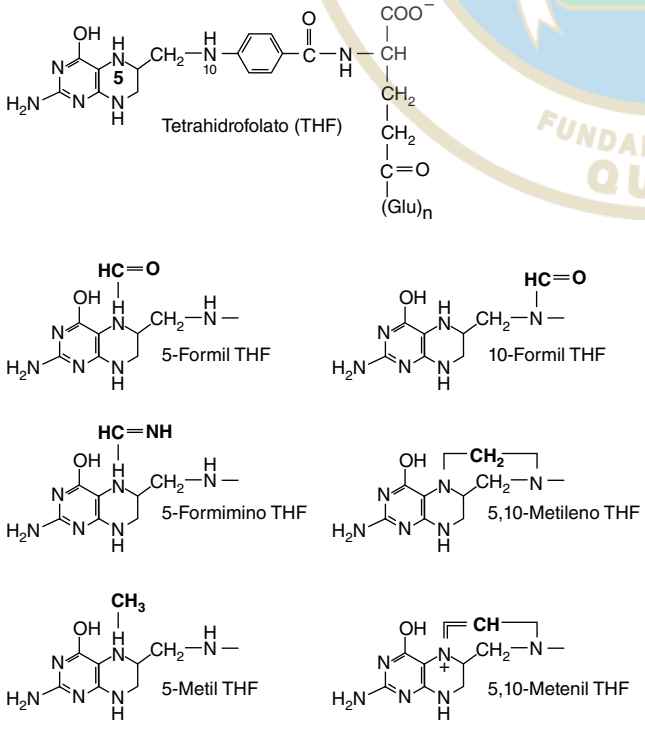


FIGURA 44-15 **Ácido tetrahidrofólico y los folatos sustituidos de un carbono.**

El tetrahidrofolato es un acarreador de unidades de un carbono

El tetrahidrofolato puede acarrear fragmentos de un carbono fijos a *N*-5 (grupos formilo, formimino o metilo), *N*-10 (formilo) o formación de puente *N*-5-*N*-10 (grupo metileno o metenil). El 5-formil-tetrahidrofolato es más estable que el folato, y, por consiguiente, es objeto de uso farmacéutico (conocido como **ácido folínico**), y el compuesto sintético (racémico) **(leucovorín)**. El principal punto de entrada para fragmentos de un carbono hacia folatos sustituidos es el metileno-tetrahidrofolato (**figura 44-16**), que se forma por medio de la reacción de glicina, serina y colina con tetrahidrofolato. La serina es la fuente de mayor importancia de folatos sustituidos para reacciones gliosintéticas, y la actividad de la serina hidroximetiltransferasa está regulada por el estado de sustitución de folato y la disponibilidad de este último. La reacción es reversible, y en el hígado puede formar serina a partir de glicina como un sustrato para la gluconeogénesis. Los metileno-, metenil- y 10-formil-tetrahidrofolatos son interconvertibles. Cuando no se requieren folatos de un carbono, la oxidación de formil-tetrahidrofolato para dar dióxido de carbono proporciona un medio para mantener un fondo común de folato libre.

Los inhibidores del metabolismo de folato proporcionan fármacos para quimioterapia de cáncer, antibacterianos y antipalúdicos

La metilación de desoxiuridina monofosfato (dUMP) hacia timidina monofosfato (TMP), catalizada por timidilato sintasa, es esencial para la síntesis de DNA. El fragmento de un carbono del metileno-tetrahidrofolato se reduce hacia un grupo metilo, con liberación de dihidrofolato, que a continuación es reducido de regreso a tetrahidrofolato por la **dihidrofolato reductasa**. La timidilato sintasa y la dihidrofolato reductasa son en especial activas en tejidos que tienen un índice alto de división celular. El **metotrexato**, un análogo del 10-metil-tetrahidrofolato, inhibe la dihidrofolato reductasa, y se ha explotado como un medicamento anticáncer. Las dihidrofolato reductasas de algunas bacterias y parásitos difieren de la enzima del ser humano; los inhibidores de estas enzimas pueden emplearse como antibacterianos (p. ej., **trimetoprim**) y antipalúdicos (p. ej., **pirimetamina**).

La deficiencia de vitamina B_{12} da por resultado deficiencia de folato funcional: la "trampa de folato"

Cuando actúa como un donador de metilo, la *S*-adenosil metionina forma homocisteína, que puede ser remetilada por el metil-tetrahidrofolato, lo cual es catalizado por la metionina sintasa, una enzima dependiente de vitamina B_{12} (figura 44-14). Puesto que la reducción de metileno-tetrahidrofolato hacia metil-tetrahidrofolato es irreversible y la principal fuente de tetrahidrofolato para los tejidos es el metil-tetrahidrofolato, la función de la metionina sintasa es vital, y proporciona un enlace entre las funciones del folato y la vitamina B_{12}. El deterioro de la metionina sintasa en la deficiencia de vitamina B_{12} origina la acumulación de metiltetrahidrofolato: la

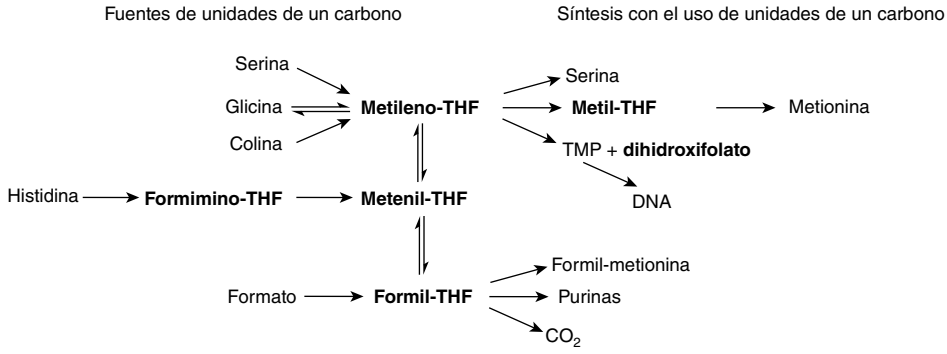


FIGURA 44-16 **Fuentes y utilización de folatos sustituidos de un carbono.**

"trampa de folato"; por tanto, hay deficiencia funcional de folato, consecutiva a deficiencia de vitamina B_{12}.

La deficiencia de folato causa anemia megaloblástica

La deficiencia de ácido fólico en sí, o la deficiencia de vitamina B_{12}, que conduce a deficiencia de ácido fólico funcional, afecta a las células que se están dividiendo con rapidez porque tienen un requerimiento grande de timidina para la síntesis de DNA. En clínica, esto afecta a la médula ósea, lo que da pie a anemia megaloblástica.

Los complementos de ácido fólico disminuyen el riesgo de defectos del tubo neural y de hiperomocisteinemia, y pueden aminorar la incidencia de enfermedad cardiovascular y algunos cánceres

Los complementos de 400 μg/día de folato iniciados antes de la concepción suscitan reducción importante de la incidencia de **espina bífida** y otros defectos del **tubo neural**. Debido a esto, en muchos países es obligatorio el enriquecimiento de la harina con ácido fólico. La homocisteína alta en sangre es un factor de riesgo importante para **aterosclerosis, trombosis** e **hipertensión**. El estado depende de alteración de la capacidad para formar metiltetrahidrofolato por medio de la metileno-tetrahidrofolato reductasa, lo que produce deficiencia de folato funcional, y ocasiona fracaso para volver a metilar la homocisteína hacia metionina. Las personas que tienen una variante anormal de la metileno-tetrahidrofolato reductasa, que ocurre en 5 a 10% de la población, no presentan hiperhomocisteinemia si tienen una ingestión relativamente alta de folato. Varios estudios controlados con placebo de complementos de folato (comúnmente junto con vitaminas B_6 y B_{12}) han mostrado la disminución esperada de homocisteína plasmática, pero además de incidencia reducida de apoplejía no se ha observado efecto sobre enfermedad cardiovascular.

Asimismo, hay evidencia de que el estado bajo en cuanto a folato da lugar a metilación alterada de islas de CpG en el DNA, que es un factor en la aparición de cáncer colorrectal y de otros cánceres. Varios estudios sugieren que los complementos de folato o el enriquecimiento de alimentos con folato pueden disminuir el riesgo de aparición de algunos cánceres. Sin embargo, hay alguna evidencia de que los complementos de folato aumentan la tasa de transformación de pólipos colorrectales paraneoplásicos hacia cánceres, de modo que en personas que presentan ese tipo de pólipos hay aumento del riesgo de aparición de cáncer colorrectal si tienen una ingestión alta de folato.

El enriquecimiento de alimentos con ácido fólico puede poner a algunas personas en riesgo

Los complementos de ácido fólico rectificarán la anemia megaloblástica propia de la deficiencia de vitamina B_{12}, pero no el daño irreversible de nervios que se observa en dicha deficiencia. De este modo, una ingestión alta de ácido fólico puede enmascarar deficiencia de vitamina B_{12}. Éste es en especial un problema para los ancianos, porque la gastritis atrófica que aparece con la edad lleva a fracaso de la secreción de ácido gástrico y, por ende, fracaso para liberar vitamina B_{12} desde proteínas de la dieta. Debido a esto, si bien muchos países han adoptado enriquecimiento obligatorio de la harina con ácido fólico para prevenir defectos del tubo neural, otros no lo han hecho. También hay antagonismo entre el ácido fólico y algunos anticonvulsivos usados en el tratamiento de la epilepsia y, como se mencionó, hay algo de evidencia de que los complementos de folato pueden aumentar el riesgo de aparición de cáncer colorrectal entre personas con pólipos colorrectales preneoplásicos.

LA DEFICIENCIA DE BIOTINA EN LA DIETA SE DESCONOCE

En la **figura 44-7** se muestran las estructuras de la biotina, biocitina y carboxibiotina (el intermediario metabólico activo). La biotina se encuentra ampliamente distribuida en muchos alimentos como biocitina (ε-amino-biotinilisina), que se libera en el momento de proteólisis. Es sintetizada por la flora intestinal en cantidades que exceden los requerimientos. La deficiencia se desconoce, excepto entre personas mantenidas durante muchos meses en nutrición parenteral total, y en un número muy pequeño de personas que comen cantidades anormalmente grandes de clara de huevo cruda, que contiene avidina, una proteína que se une a la biotina y hace que no esté disponible para absorción.

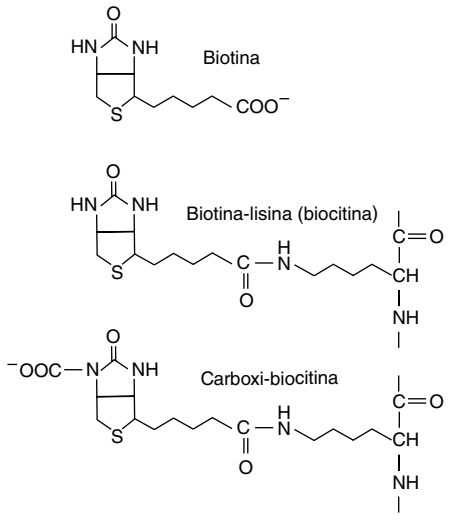


FIGURA 44-17 **Biotina, biocitina y carboxi-biocitina.**

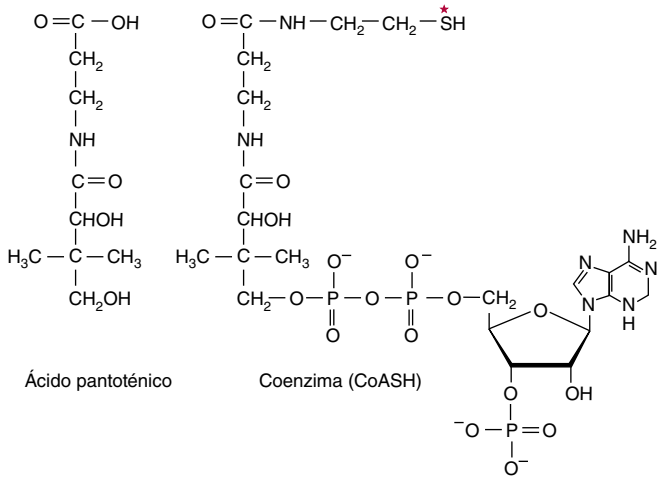


FIGURA 44-18 **Ácido pantoténico y coenzima A.** El asterisco muestra el sitio de acilación por ácidos grasos.

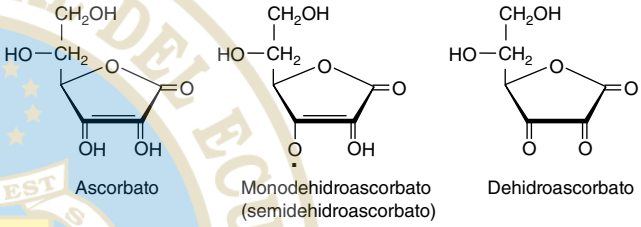


FIGURA 44-19 **Vitamina C.**

La biotina es una coenzima de las enzimas carboxilasa

La biotina funciona para transferir dióxido de carbono en un pequeño número de reacciones: acetil-CoA carboxilasa (figura 23-1), piruvato carboxilasa (figura 19-1), propionil-CoA carboxilasa (figura 19-2) y metilcrotonil-CoA carboxilasa. Una holocarboxilasa sintetasa cataliza la transferencia de biotina hacia un residuo lisina de la apoenzima para formar el residuo biocitina de la holoenzima. El intermediario reactivo es la 1-*N*-carboxibiocitina, que se forma a partir de bicarbonato en una reacción dependiente de ATP. El grupo carboxilo a continuación se transfiere hacia el sustrato para carboxilación.

Asimismo, la biotina participa en la regulación del ciclo celular; actúa para biotinilar proteínas nucleares clave.

COMO PARTE DE LA CoA Y DE LA PROTEÍNA ACARREADORA DE ACILO (ACP), EL ÁCIDO PANTOTÉNICO ACTÚA COMO UN ACARREADOR DE GRUPOS ACILO

El ácido pantoténico tiene una participación fundamental en el metabolismo del grupo acilo cuando actúa como la parte funcional panteteína de la coenzima A o de la ACP (**figura 44-18**). La porción panteteína se forma luego de combinación de pantotenato con cisteína, que proporciona el grupo prostético-SH de la CoA y la ACP. La CoA participa en reacciones del ciclo del ácido cítrico (capítulo 16), la oxidación de ácido graso (capítulo 22), acetilaciones y síntesis de colesterol (capítulo 26). La ACP participa en la síntesis de ácido graso (capítulo 23). La vitamina se encuentra ampliamente distribuida en todos los productos alimenticios, y la deficiencia no se ha informado de modo inequívoco en seres humanos salvo en estudios de agotamiento específico.

EL ÁCIDO ASCÓRBICO ES UNA VITAMINA PARA SÓLO ALGUNAS ESPECIES

La **vitamina C** (**figura 44-19**) es una vitamina para humanos y otros primates, los conejillos de Indias (cobayos), los murciélagos, las aves paseriformes y casi todos los peces invertebrados; otros animales la sintetizan como un intermediario en la vía del ácido urónico del metabolismo de la glucosa (figura 20-4). En las especies para las cuales es una vitamina, hay un bloqueo de la vía como resultado de la falta de la gulonolactona oxidasa. Tanto el ácido ascórbico como el ácido dehidroascórbico tienen actividad de vitamina.

La vitamina C es la coenzima para dos grupos de hidroxilasas

El ácido ascórbico tiene funciones específicas en las hidroxilasas que contienen cobre y las hidroxilasas que contienen hierro enlazadas a α-cetoglutarato. También aumenta la actividad de varias otras enzimas *in vitro,* si bien ésta no es una acción reductora inespecífica. Más aún, tiene varios efectos no enzimáticos como resultado de su acción como un agente reductor de radicales de oxígeno y que los desactiva (capítulo 45).

La **dopamina β-hidroxilasa** es una enzima que contiene cobre, que participa en la síntesis de las catecolaminas (noradrenalina y adrenalina), a partir de tirosina en la médula suprarrenal y el sistema nervioso central. Durante la hidroxilación el Cu^{+} se oxida hacia Cu^{2+}; la reducción de regreso hacia Cu^{+} necesita de

manera específica ascorbato, que se oxida hacia monodehidroascorbato.

Varias hormonas peptídicas tienen una amida carboxilo terminal que se deriva de un residuo glicina terminal. Esta glicina se hidroxila en el carbono α mediante una enzima que contiene cobre, la **peptidilglicina hidroxilasa** que, de nuevo, requiere ascorbato para reducción de Cu^{2+}.

Varias hidroxilasas que contienen hierro, y que necesitan ascorbato, comparten un mecanismo de reacción común, en el cual la hidroxilación del sustrato está enlazada a la descarboxilación oxidativa de α-cetoglutarato. Muchas de estas enzimas participan en la modificación de proteínas precursoras. Las **prolina** y **lisina** hidroxilasas se requieren para la modificación postsintética del **procolágeno** hacia **colágeno**, y la prolina hidroxilasa también se necesita en la formación de **osteocalcina** y el componente C1q del **complemento**. La aspartato β-hidroxilasa se requiere para la modificación postsintética del precursor de la proteína C, la proteasa dependiente de vitamina K que hidroliza el factor V activado en la cascada de coagulación de la sangre (capítulo 52). La trimetil lisina y las γ-butirobetaína hidroxilasas se necesitan para la síntesis de carnitina.

La deficiencia de vitamina C da por resultado escorbuto

Los signos de deficiencia de vitamina C son cambios de la piel, fragilidad de los capilares sanguíneos, alteraciones de las encías, pérdida de dientes y fractura de huesos, muchas de las cuales pueden atribuirse a síntesis deficiente de colágeno.

La ingestión más alta de vitamina C puede generar beneficios

A ingestiones por arriba de aproximadamente 100 mg/día, la capacidad del cuerpo para metabolizar vitamina C se satura, y cualquier ingestión adicional se excreta en la orina. Con todo, además de sus otras funciones, la vitamina C incrementa la absorción de hierro inorgánico, y esto depende de la presencia de la vitamina en el intestino. En consecuencia, las ingestiones aumentadas pueden ser beneficiosas. Hay muy poca evidencia de que las dosis altas de vitamina C prevengan el resfriado común, aunque pueden reducir la duración y la intensidad de los síntomas.

SE REQUIEREN MINERALES PARA FUNCIONES TANTO FISIOLÓGICAS COMO BIOQUÍMICAS

Muchos de los minerales esenciales (**cuadro 44-6**) están ampliamente distribuidos en los alimentos, y la mayoría de las personas que come una dieta mixta tiene probabilidades de recibir ingestiones adecuadas. Las cantidades requeridas varían desde gramos por día para el sodio y el calcio, pasando por mg por día (p. ej., hierro y cinc), hasta microgramos por día para los oligoelementos. En general, las deficiencias de mineral suceden cuando los alimentos provienen de una región donde puede haber escasez de algunos minerales en el suelo (p. ej., yodo y selenio, de los cuales hay pocas cantidades en muchas áreas del mundo); cuando los alimentos provienen de diversas regiones, es menos probable que ocurra deficiencia de mineral. La deficiencia de hierro es un problema importante en todo el mundo, porque las pérdidas de hierro desde el organismo son relativamente altas (p. ej., por pérdida intensa de sangre menstrual, o por parásitos intestinales), es difícil alcanzar una ingestión adecuada para reemplazar pérdidas. Sin embargo, 10% de la población (y más en algunas áreas) tiene riesgo de sobrecarga de hierro por mecanismos genéticos, lo cual lleva a la formación de radicales libres como resultado de reacciones no enzimáticas de iones de hierro en solución libres cuando se ha excedido la capacidad de las proteínas de unión a hierro. Los alimentos cultivados en tierra que contiene cifras altas de selenio causan toxicidad, y las ingestiones excesivas de sodio causan hipertensión en personas susceptibles.

CUADRO 44-6 Clasificación de los minerales de acuerdo con su función

Función	Mineral
Función estructural	Calcio, magnesio, fosfato
Involucrados en la función de membrana	Sodio, potasio
Función como grupos prostéticos en enzimas	Cobalto, cobre, hierro, molibdeno, selenio, cinc
Función reguladora o función en la acción hormonal	Calcio, cromo, yodo, magnesio, manganeso, sodio, potasio
Se sabe que son esenciales, pero se desconoce su función	Silicio, vanadio, níquel, estaño
Tienen efectos en el organismo, pero en esencia no se encuentran establecidos	Fluoruro, litio
Pueden hallarse en alimentos, y se sabe que en cantidades excesivas es tóxico	Aluminio, arsénico, antimonio, boro, bromo, cadmio, cesio, germanio, plomo, mercurio, plata, estroncio

RESUMEN

- Las vitaminas son nutrientes orgánicos con funciones metabólicas esenciales, que regularmente se necesitan en pequeñas cantidades en la dieta porque el cuerpo no puede sintetizarlas. Las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) son moléculas hidrofóbicas cuya absorción y la evitación de deficiencia requiere absorción normal de grasa.
- La vitamina A (retinol), presente en la carne, y la provitamina (β-caroteno), que se encuentra en vegetales, forman retinaldehído, que se utiliza en la visión, y ácido retinoico, que actúa en el control de la expresión de gen.
- La vitamina D es una prohormona esteroide que da la hormona activa calcitriol, que regula el metabolismo del calcio y el fosfato; la deficiencia lleva a raquitismo y osteomalacia.
- La vitamina E (tocoferol) es el antioxidante liposoluble de mayor importancia en el organismo; actúa en la fase líquida y de membranas protegiendo contra los efectos de radicales libres.
- La vitamina K funciona como cofactor de una carboxilasa que actúa sobre residuos glutamato de proteínas precursoras de factores de la coagulación y otras proteínas óseas para permitirles quelar calcio.

- Las vitaminas hidrosolubles del complejo B actúan como cofactores de enzimas. La tiamina es un cofactor en la descarboxilación oxidativa de α-cetoácidos y de transcetolasa en la vía de la pentosa fosfato. La riboflavina y niacina son cofactores importantes en reacciones de oxidorreducción, presentes en enzimas flavoproteína y en el NAD y NADP, respectivamente.
- El ácido pantoténico está presente en la coenzima A y en la proteína acarreadora de acilo, que actúan como acarreadores para grupos acilo en reacciones metabólicas.
- La vitamina B_6 como fosfato de piridoxal es la coenzima para varias enzimas del metabolismo de aminoácidos, entre ellas las transaminasas, y de la glucógeno fosforilasa. La biotina es la coenzima para varias enzimas carboxilasa.
- La vitamina B_{12} y el folato proporcionan residuos de un carbono para la síntesis de DNA y otras reacciones; la deficiencia suscita anemia megaloblástica.
- La vitamina C es un antioxidante hidrosoluble que mantiene en el estado reducido a la vitamina E y muchos cofactores metal.
- Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo deben encontrarse en la dieta. Cuando la ingestión es insuficiente, puede aparecer deficiencia, y las ingestiones excesivas pueden ser tóxicas.

REFERENCIAS

Bender DA: *Nutritional Biochemistry of the Vitamins*, 2nd ed. Cambridge University Press, 2003.

Bender DA, Bender AE: *Nutrition: A Reference Handbook.* Oxford University Press, 1997.

Department of Health: *Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom.* Her Majesty's Stationery Office, 1991.

FAO/WHO: *Human Vitamin and Mineral Requirements: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation: Bangkok, Thailand.* Food and Nutrition Division of the United Nations Food and Agriculture Organization, 2000.

Geissler C, Powers HJ: *Human Nutrition*, 12th ed. Elsevier, 2010.

Gibney MJ, Lanham-New S, Cassidy A, *et al*: *Introduction to Human Nutrition, The Nutrition Society Textbook Series*, 2nd ed. Wiley-Blackwell, 2009.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride.* National Academy Press, 1997.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Values for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin and Choline.* National Academy Press, 2000.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Values for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids.* National Academy Press, 2000.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc.* National Academy Press, 2001.

Scientific Advisory Committee on Nutrition of the Food Standards Agency: *Folate and Disease Prevention.* The Stationery Office, 2006.

CAPÍTULO 45

Radicales libres y nutrientes antioxidantes

David A. Bender, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir el daño causado al DNA, lípidos y proteínas por radicales libres, y las enfermedades asociadas con daño por radical.
- Describir las principales fuentes de radicales de oxígeno en el organismo.
- Identificar los mecanismos y factores de la dieta que protegen contra daño por radical.
- Explicar cómo los antioxidantes también pueden actuar como prooxidantes, y por qué los estudios de intervención de nutrientes antioxidantes en general han dado resultados desalentadores.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los radicales libres se forman en el organismo en condiciones normales. Dan por resultado daño de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas. Esto puede originar **cáncer**, **aterosclerosis** y **enfermedad de arteria coronaria**, y **enfermedades autoinmunitarias**. En estudios epidemiológicos y de laboratorio se han identificado varios **nutrientes antioxidantes** protectores: selenio, vitaminas C y E, β-caroteno, y otros carotenoides, y varios compuestos polifenólicos derivados de alimentos de origen vegetal. Muchas personas toman complementos de uno o más nutrientes antioxidantes. Sin embargo, estudios de intervención muestran poco beneficio de los complementos de antioxidantes excepto entre personas que al principio tenían deficiencia, y muchos estudios sobre el β-caroteno y la vitamina E han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes recibieron los complementos.

Las reacciones de radicales libres son reacciones en cadena que se perpetúan por sí mismas

Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no pareado; sólo persisten durante un tiempo muy breve (del orden de 10^{-9} a 10^{-12} s) antes de colisionar con otra molécula y sustraer o donar un electrón para alcanzar estabilidad. Al hacerlo, generan un nuevo radical a partir de la molécula con la cual colisionaron. El principal modo en el cual se puede desactivar un radical libre, y así poner fin a esta reacción en cadena, es si dos radicales reaccionan juntos, cuando los electrones no pareados pueden formar par en una u otra de las moléculas originales. Este suceso es raro, debido a la vida media muy breve de un radical individual y las concentraciones muy bajas de radicales en los tejidos.

Los radicales más perjudiciales en sistemas biológicos son los radicales de oxígeno (a veces denominados especies de oxígeno reactivas), en especial superóxido, $^{\bullet}O_2^-$, hidroxilo, $^{\bullet}OH$ y perhidroxilo, $^{\bullet}O_2H$. El daño de tejido causado por radicales de oxígeno suele llamarse daño oxidativo y los factores que protegen contra daño por radical de oxígeno se conocen como antioxidantes.

Los radicales pueden dañar DNA, lípidos y proteínas

La interacción de radicales con bases en el DNA puede llevar a cambios químicos que, si no se reparan (capítulo 35), pueden heredarse en las células hijas. El daño por radical de ácidos grasos insaturados en membranas celulares y proteínas plasmáticas conduce a la formación de peróxidos de lípidos, y después a dialdehídos muy reactivos que pueden modificar químicamente proteínas y bases de ácidos nucleicos. Las proteínas también están sujetas a modificación química directa por interacción con radicales. El daño oxidativo de residuos tirosina en proteínas puede llevar a la formación de dihidroxifenilalanina que puede pasar por reacciones no enzimáticas que dan pie a formación adicional de radicales de oxígeno (**figura 45-1**).

La carga corporal total de radical puede estimarse al medir los productos de la peroxidación de lípidos. Los peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de la oxidación ferrosa en valoración con naranja de xilenol (FOX). En condiciones ácidas, oxidan Fe^{2+} hacia Fe^{3+}, que forma un cromóforo con el naranja de xilenol. Los dialdehídos formados a partir de peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de reacción con ácido tiobarbitúrico, cuando forman un aducto fluorescente de color rojo; los resultados de esta reacción por lo general se reportan como sustancias reactivas a ácido barbitúrico totales, TBARS. La peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados n-6 lleva a la formación de pentano, y la de ácidos grasos poliinsaturados n-3 a la formación de etano; ambos pueden medirse en el aire espirado.

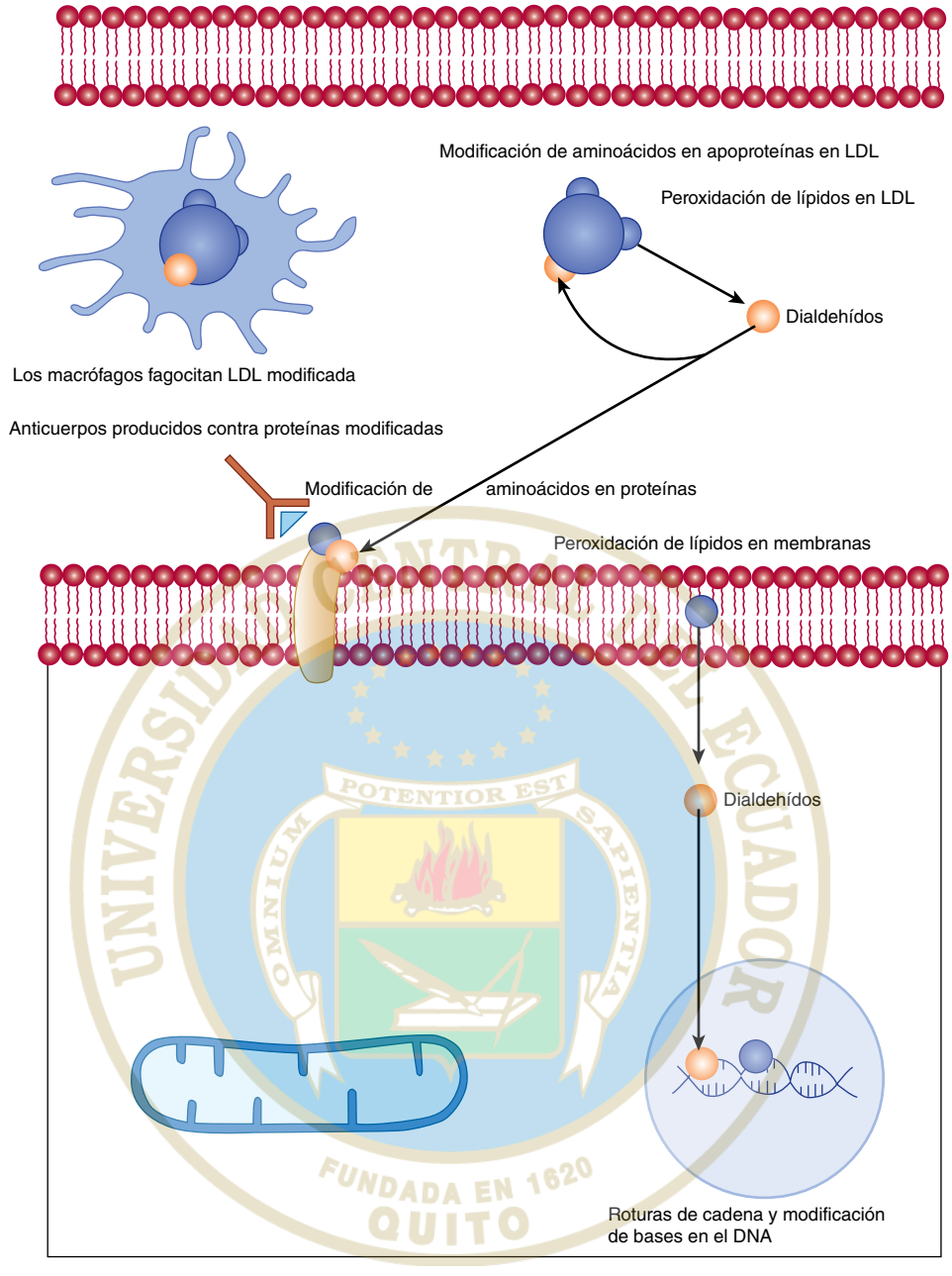


FIGURA 45-1 **Daño de tejido por radicales.**

El daño por radicales puede suscitar mutaciones, cáncer, enfermedad autoinmunitaria y aterosclerosis

El daño del DNA por radical en células de la línea germinal en los ovarios y los testículos puede llevar a mutaciones hereditarias; en las células somáticas el resultado puede ser el inicio de cáncer. Los dialdehídos que se forman como resultado de peroxidación de lípidos inducida por radical en membranas celulares también pueden modificar bases en el DNA.

La modificación química de aminoácidos en proteínas, sea por acción directa de radical o como resultado de reacción con los productos de peroxidación de lípidos inducida por radical, conduce a proteínas que el sistema inmunitario reconoce como extrañas. Los anticuerpos resultantes también tendrán reacción cruzada con proteínas hísticas normales, de manera que se inicia enfermedad autoinmunitaria.

La modificación química de las proteínas o los lípidos en lipoproteína de baja densidad (LDL) plasmática da pie a LDL anormal que no es reconocida por los receptores de LDL del hígado y, así, no se depura en dicho órgano. La LDL modificada es captada por los receptores recolectores de los macrófagos. Los macrófagos ingurgitados con lípido se infiltran bajo el endotelio de los vasos sanguíneos (en particular cuando ya hay cierto daño del endotelio), y son muertos por el alto contenido de colesterol no esterificado que han acumulado. Esto ocurre en la aparición de placas ateroscleróticas que, en casos extremos, pueden ocluir de modo más o menos completo un vaso sanguíneo.

Hay múltiples fuentes de radicales de oxígeno en el cuerpo

Las radiaciones ionizantes (rayos X y UV) pueden lisar el agua, lo que lleva a la formación de radicales hidroxilo. Los iones metálicos de transición, entre ellos Cu^{+}, Co^{2+}, Ni^{2+} y Fe^{2+}, pueden reaccionar de manera no enzimática con oxígeno o peróxido de hidrógeno, lo que de nuevo conduce a la formación de radicales hidroxilo. El óxido nítrico (el factor de relajación derivado del endotelio) en sí es un radical y, lo que es más importante, puede reaccionar con el superóxido para dar peroxinitrito, que se desintegra para formar radicales hidroxilo (**figura 45-2**).

La explosión respiratoria de macrófagos activados (capítulo 53) es la utilización incrementada de glucosa por medio de la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20) para reducir $NADP^{+}$ a NADPH y utilización aumentada de oxígeno para oxidar NADPH para producir radicales de oxígeno (y halógeno) como agentes citotóxicos para matar microorganismos fagocitados. La oxidasa de la explosión respiratoria (NADPH oxidasa) es una flavoproteína que reduce el oxígeno hacia superóxido:

$$NADPH + 2O_2 \rightarrow NADP+ + 2{\cdot}O_2^{-} + 2H^{+}$$

Los marcadores plasmáticos de daño de lípidos por radical incrementan de modo considerable en respuesta a incluso una infección leve.

La oxidación de coenzimas flavina reducidas en las cadenas de transporte de electrones mitocondrial (capítulo 13) y microsómica procede por una serie de pasos en los cuales el radical flavina semiquinona es estabilizado por la proteína a la cual está unido, y forma radicales de oxígeno como intermediarios transitorios. Aunque los productos finales no son radicales, debido a la naturaleza impredecible de los radicales hay considerable "escape" de éstos, y alrededor de 3 a 5% del consumo diario de 30 mol de oxígeno por un humano adulto se convierte en oxígeno singleto, peróxido de hidrógeno, y radicales superóxido, perhi-

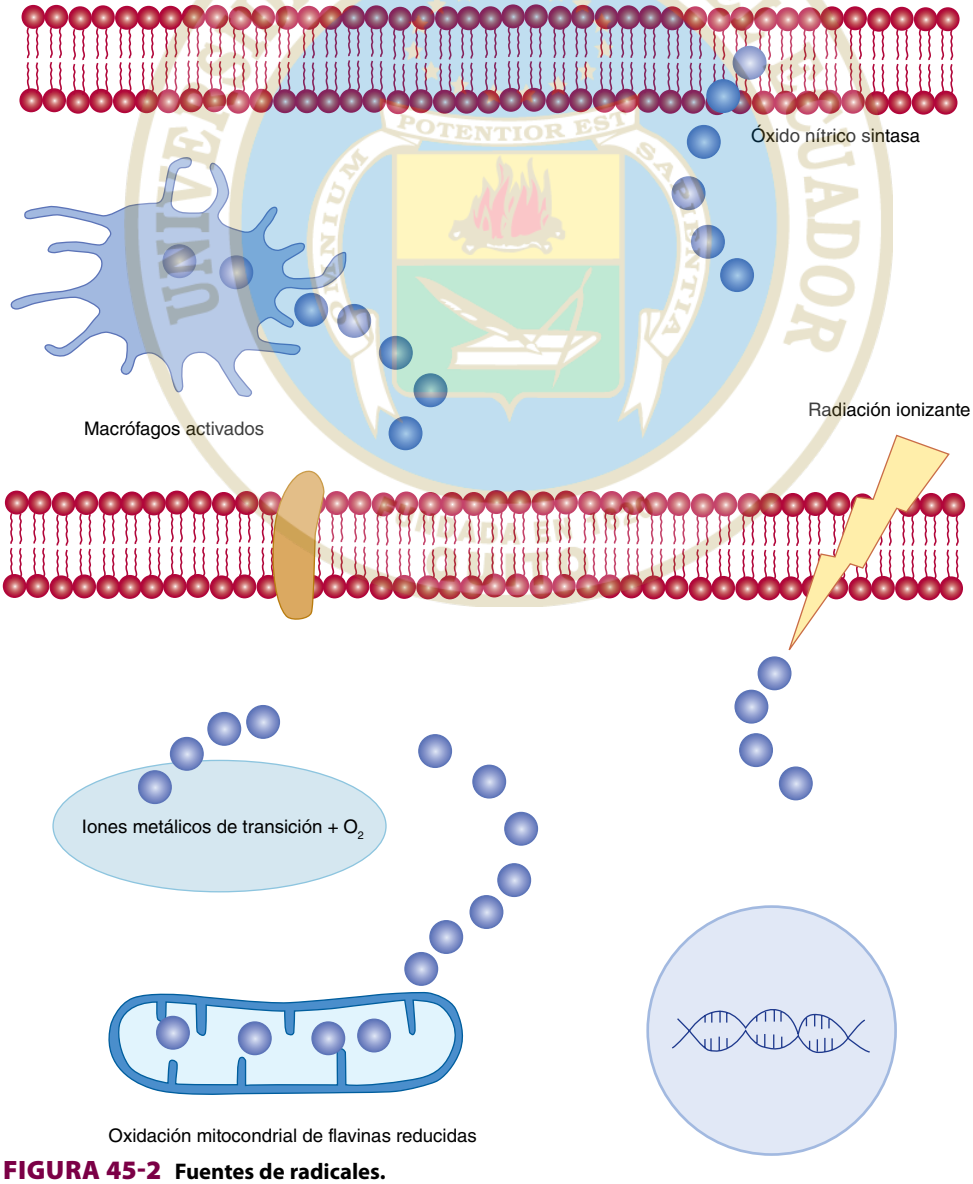


FIGURA 45-2 **Fuentes de radicales.**

droxilo e hidroxilo, en lugar de pasar por reducción completa hacia agua. Esto da por resultado la producción diaria de aproximadamente 1.5 mol de especies de oxígeno reactivas.

Hay varios mecanismos de protección contra daño por radical

Los iones metálicos que pasan por reacción no enzimática para formar radicales de oxígeno normalmente no se encuentran libres en solución, sino que están unidos a las proteínas para las cuales proporcionan el grupo prostético, o a proteínas de transporte y almacenamiento específicas, de manera que son no reactivos. El hierro está unido a la transferrina, ferritina y hemosiderina, el cobre a la ceruloplasmina, y otros iones metálicos están unidos a metalotioneína. Esta unión a proteínas de transporte que son demasiado grandes como para que se filtren en los riñones también evita la pérdida de iones metálicos en la orina.

El superóxido se produce de modo accidental, y como las especies de oxígeno reactivas requeridas para diversas reacciones catalizadas por enzima. Una familia de superóxido dismutasas cataliza la reacción entre superóxido y protones para dar oxígeno y peróxido de hidrógeno:

$$^{\bullet}O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

El peróxido de hidrógeno a continuación es eliminado por la catalasa y por diversas peroxidasas: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$; casi todas las enzimas que producen y requieren superóxido están en los peroxisomas, junto con la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas.

Los peróxidos que se forman por daño por radical de lipoides en membranas y lipoproteínas plasmáticas son reducidos hacia ácidos grasos hidroxi por la glutatión peroxidasa, una enzima dependiente de selenio (de ahí la importancia de la ingestión adecuada de selenio para maximizar la actividad antioxidante), y el glutatión oxidado es reducido por la glutatión reductasa dependiente de NADPH (figura 20-3). Los peróxidos lipídicos también son reducidos a ácidos grasos por reacción con vitamina E, lo cual forma el radical tocoferoxilo, que es relativamente estable, porque el electrón no pareado puede estar situado en cualquiera de tres posiciones en la molécula (**figura 45-3**). El radical tocoferoxilo persiste suficiente tiempo como para sufrir reducción de regreso a tocoferol mediante reacción con vitamina C en la superficie de la célula o la lipoproteína (figura 44-6). El radical monodehidroascorbato resultante luego pasa por reducción enzimática de regreso hacia ascorbato o una reacción no enzimática de 2 mol de monodehidroascorbato para dar 1 mol, cada uno, de ascorbato y dehidroascorbato.

El ascorbato, el ácido úrico y diversos polifenoles derivados de alimentos de origen vegetal actúan como antioxidantes hidrosolubles que atrapan radical, lo que forma radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por reacción hacia productos no radicales. De manera similar, la ubiquinona y los carotenos actúan como antioxidantes liposolubles que atrapan radical en membranas y lipoproteínas plasmáticas.

Los antioxidantes Paradox-antioxidantes también pueden ser prooxidantes

Si bien el ascorbato es un antioxidante, que reacciona con superóxido e hidroxilo para dar monodehidroascorbato y peróxido de hidrógeno o agua, también puede ser una fuente de radicales superóxido mediante reacción con oxígeno, y de radicales hidroxilo por medio de reacción con iones de Cu^{2+} (**cuadro 45-1**). Empero, estas acciones prooxidantes necesitan cifras relativamente altas de ascorbato que es poco probable que se alcancen en los tejidos, porque una vez que la concentración plasmática de ascorbato alcanza alrededor de 30 mmol/L, se llega al umbral renal, y a ingestiones por arriba de aproximadamente 100 a 120 mg/día la vitamina se excreta en la orina de modo cuantitativo con la ingestión.

Una cantidad considerable de evidencia epidemiológica sugiere que el caroteno protege contra cánceres pulmonar y de otros tipos. Con todo, dos estudios de intervención importantes en el decenio de 1990-1999 mostraron un aumento de las muertes por cáncer pulmonar (y de otros tipos) entre personas que recibieron complementos de β-caroteno. El problema es que si bien el β-caroteno en realidad es un antioxidante que atrapa radicales en condiciones de presión parcial baja de oxígeno, como en casi todos los tejidos, a presiones parciales altas de oxígeno (como en los pulmones) y especialmente en concentraciones altas, el β-caroteno es un prooxidante autocatalítico y, en consecuencia, puede iniciar daño de lípidos y proteínas por radicales.

Evidencia epidemiológica también sugiere que la vitamina E es protectora contra aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Aun así, metaanálisis de estudios de intervención con vitamina E muestran incremento de la mortalidad entre quienes toman complementos (en dosis altas). En todos estos estudios se ha usado α-tocoferol, y es posible que los otros vitámeros de la vitamina E que están presentes en los alimentos, no así en los complementos, tengan importancia. *In vitro,* las proteínas plasmáticas forman menos hidroperóxido de éster de colesterol cuando se incuban con fuentes de concentraciones bajas de radicales perhidroxilo cuando la vitamina C se ha eliminado que cuando está presente. El problema parece ser que la vitamina E actúa como un antioxidante al formar un radical estable que persiste lo suficiente como para pasar por metabolismo hacia productos no radicales. Esto significa que el radical también persiste suficiente tiempo como para penetrar a mayor profundidad en la lipoproteína, lo que da

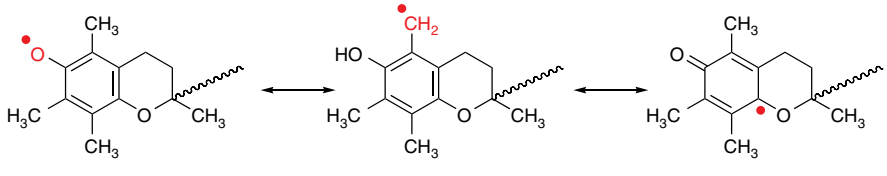


FIGURA 45-3 **Deslocalización del electrón no pareado en el radical tocoferoxilo.**

CUADRO 45-1 Funciones antioxidantes y prooxidantes de la vitamina C

Funciones antioxidantes:
Ascorbato + $\cdot O_2^-$ → H_2O_2 + monodehidroascorbato; la catalasa y las peroxidasas catalizan la reacción: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Ascorbato + •OH → H_2O + monodehidroascorbato
Funciones prooxidantes:
Ascorbato + $O_2 \rightarrow \cdot O_2^-$ + monodehidroascorbato
Ascorbato + $Cu^{2+} \rightarrow Cu^+$ + monodehidroascorbato
$Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + OH^- +$ •OH

por resultado más daño por radical, en lugar de interactuar con un antioxidante hidrosoluble en la superficie de la lipoproteína.

El óxido nítrico y otros radicales son importantes en la señalización celular, especialmente en la señalización para muerte celular programada (apoptosis) de células que han sufrido daño de DNA y otros daños. Es probable que las concentraciones altas de antioxidantes, lejos de proteger contra daño de tejido, quizá apaguen los radicales señalizadores y, así, permitan la supervivencia continua de células dañadas, y aumenten el riesgo de aparición de cáncer en lugar de disminuirlo.

RESUMEN

- Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no pareado. Pueden reaccionar con, además de modificar, proteínas, ácidos nucleicos y ácidos grasos en las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas.
- El daño por radical de lípidos y proteínas en lipoproteínas plasmáticas es un factor en la aparición de aterosclerosis y arteriopatía coronaria; el daño por radical de ácidos nucleicos puede inducir mutaciones hereditarias y cáncer; el daño por radical de proteínas puede llevar a enfermedades autoinmunitarias.
- Los radicales de oxígeno se forman como resultado de exposición a radiación ionizante, reacciones no enzimáticas de iones metálicos de transición, la explosión respiratoria de macrófagos activados, y la oxidación normal de coenzimas flavina reducidas.
- La protección contra daño por radicales es proporcionada por enzimas que eliminan iones superóxido y peróxido de hidrógeno, reducción enzimática de peróxidos de lípidos enlazados a oxidación de glutatión, reacción no enzimática de peróxidos de lípidos con vitamina E, y reacción de radicales con compuestos como vitaminas C y E, caroteno, ubiquinona, ácido úrico, y polifenoles de la dieta que forman radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por una reacción hacia productos no radicales.
- Salvo en personas que al principio tuvieron deficiencia, los estudios de intervención sobre vitamina E y β-caroteno en general han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes toman los complementos. El β-caroteno sólo es un antioxidante a cifras bajas de oxígeno; a concentraciones más altas de oxígeno es un prooxidante autocatalítico. La vitamina E forma un radical estable que tiene la capacidad de reaccionar con antioxidantes hidrosolubles o de penetrar más hacia lipoproteínas y tejidos, de manera que incrementa el daño por radicales.
- Los radicales son importantes en la señalización celular, y especialmente en la señalización para apoptosis de células que han sufrido daño de DNA. Es probable que las concentraciones altas de antioxidantes, lejos de proteger contra daño de tejido, quizás apaguen los radicales señalizadores y, así, permitan la supervivencia continua de células dañadas, y aumenten el riesgo de aparición de cáncer, en lugar de disminuirlo.

REFERENCIAS

Asplund K: Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review. J Intern Med 2002;251:372.

Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, *et al*: Mortality in randomised trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention. JAMA 2007;297:842.

Burton G, Ingold K: β-Carotene, an unusual type of lipid antioxidant. Science 1984;224:569.

Carr A, Frei B: Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J 1999;13:1007.

Cordero Z, Drogan D, Weikert C, *et al*: Vitamin E and risk of cardiovascular diseases: a review of epidemiologic and clinical trial studies. Crit Rev Food Sci Nutr 2010;50;420.

Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I: No evidence supports vitamin E indiscriminate supplementation. Biofactors 2009;35:469.

Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE: Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? J Lab Clin Med 1992;119:598.

Imlay JA: Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. Ann Rev Biochem 2008;77:755.

Imlay JA: Pathways of oxidative damage. Ann Rev Microbiol 2003;57:395.

Klaunig JE, Kamendulis LM: The role of oxidative stress in carcinogenesis. Ann Rev Pharm Tox 2004;44:239.

Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, *et al*: Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. Ann Intern Med 2005;142:37.

Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, *et al*: Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1150.

Various authors: Symposium: antioxidant vitamins and β-carotene in disease prevention. Amer J Clin Nutr 1995;62(suppl 6):12995.

Various authors: Symposium proceedings: molecular mechanisms of protective effects of vitamin E in atherosclerosis. J Nutr 2001;131:366.

Zeisel SH: Antioxidants suppress apoptosis. J Nutr 2004;134:3179S.

CAPÍTULO

46

Glucoproteínas

David A. Bender, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar la importancia de las glucoproteínas en la salud y la enfermedad.
- Describir los principales azúcares que se encuentran en las glucoproteínas.
- Describir las principales clases de glucoproteínas (*N*-enlazadas, *O*-enlazadas, y GPI-enlazadas).
- Describir las principales características de las vías de la biosíntesis y degradación de glucoproteínas.
- Explicar la importancia de los productos terminales de glucación avanzada en la causa de daño tisular en la diabetes mellitus.
- Explicar cómo muchos microorganismos, como el virus de la gripe, se fijan a las superficies celulares por medio de cadenas de azúcar.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las **glucoproteínas** son proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos (glucanos) unidos de manera covalente a aminoácidos. Al menos la mitad de las proteínas eucariontes tiene azúcares unidos, de modo que la **glucosilación** (la fijación enzimática de azúcares) es la modificación postraduccional más frecuente de las proteínas. Muchas proteínas también pasan por glucosilación reversible con un azúcar único (*N*-acetilglucosamina) unido a un residuo de serina o de treonina que también es un sitio para la fosforilación reversible. Éste es un mecanismo importante de regulación metabólica. También puede ocurrir unión no enzimática de azúcares a proteínas, y se denomina **glucación**. Este proceso puede tener consecuencias patológicas graves (p. ej., en la diabetes mellitus mal controlada).

Las glucoproteínas son una clase de **glucoconjugado** o **carbohidrato complejo** (términos equivalentes que se usan para denotar moléculas que contienen una o más cadenas de carbohidrato enlazadas de manera covalente a proteína —para formar glucoproteínas o proteoglucanos— o lípido —para formar glucolípidos—). (Los **proteoglucanos** se comentan en el capítulo 50 y los **glucolípidos** en el capítulo 21). Casi todas las **proteínas plasmáticas** del humano, con la notable excepción de la albúmina, son glucoproteínas. Muchas **proteínas de las membranas celulares** (capítulo 40) contienen cantidades considerables de carbohidrato, y muchas proteínas de membrana están ancladas a la bicapa lipídica mediante una cadena de glucano. Varias de las **sustancias de grupo sanguíneo** son glucoproteínas, mientras que otras son glucoesfingolípidos. Muchas **hormonas** peptídicas son glucoproteínas. Un problema importante en el cáncer son las **metástasis** (capítulo 56), y cada vez hay más evidencia de que las alteraciones en las estructuras de glucoproteínas y otros glucoconjugados sobre la superficie de células cancerosas son importantes en las metástasis.

LAS GLUCOPROTEÍNAS SE ENCUENTRAN AMPLIAMENTE Y DESEMPEÑAN MUCHAS FUNCIONES

Las glucoproteínas se encuentran en casi todos los organismos, desde bacterias hasta humanos. Muchos virus también contienen glucoproteínas, algunas de las cuales desempeñan papeles clave en la fijación de virus a células huésped (p. ej., HIV-1 y virus de la gripe A). Las glucoproteínas tienen una amplia gama de funciones (**cuadro 46-1**); su contenido de carbohidrato varía de 1% a más de 85% por peso. Las estructuras de glucano de las glucoproteínas cambian en respuesta a señales involucradas en la diferenciación celular, la fisiología normal, y la transformación neoplásica. Tal es el resultado de diferentes patrones de expresión de glucosiltransferasas en condiciones diferentes. En el **cuadro 46-2** se listan algunas de las principales funciones de las cadenas de glucano de las glucoproteínas.

LAS CADENAS DE OLIGOSACÁRIDOS CODIFICAN INFORMACIÓN BIOLÓGICA

La información biológica en la secuencia y los enlaces de azúcares en glucanos difiere en un aspecto importante de la que se encuentra en el DNA, el RNA y las proteínas: es información secundaria más que primaria. El patrón de glucosilación de una proteína dada depende menos de su secuencia de aminoácidos que del patrón de expresión de las diversas **glucosiltransferasas** en la célula, que están involucradas en la síntesis de glucoproteínas, la afinidad de

CUADRO 46-1 Algunas funciones de las glucoproteínas

Función	Glucoproteínas
Molécula estructural	Colágenos
Agente lubricante y protector	Mucinas
Molécula de transporte	Transferrina, ceruloplasmina
Molécula inmunológica	Inmunoglobulinas, antígenos de histocompatibilidad
Hormona	Gonadotropina coriónica, hormona estimulante de la tiroides (TSH)
Enzima	Varias, como fosfatasa alcalina
Sitio de reconocimiento de fijación celular	Varias proteínas involucradas en interacciones entre célula-célula (p. ej., espermatozoide-ovocito), virus-célula, bacteria-célula, y hormona-célula
Anticongelante	Proteínas plasmáticas de pez de agua fría
Interactúa con carbohidratos específicos	Lectinas, selectinas (lectinas de adhesión celular), anticuerpos
Receptor	Proteínas de superficie celular involucradas en la acción de hormonas y fármacos
Regula el plegamiento de proteínas que son exportadas desde la célula	Calnexina, calreticulina
Regulación de la diferenciación y el desarrollo	Notch y sus análogos, proteínas clave en el desarrollo
Hemostasia (y trombosis)	Glucoproteínas específicas sobre las membranas superficiales de plaquetas

las diferentes glucosiltransferasas por sus sustratos carbohidrato y la disponibilidad relativa de los diferentes sustratos carbohidrato. Debido a esto hay **microheterogeneidad** de glucoproteínas. No todas las cadenas de glucano de una glucoproteína dada son completas; algunas están truncadas.

La información proveniente de los azúcares se expresa por medio de interacciones entre los glucanos y proteínas como **lectinas** (véase más adelante) u otras moléculas. Estas interacciones llevan a cambios de la actividad celular. De este modo, descifrar el llamado **código de los azúcares de la vida** (uno de los principales objetivos de la **glicómica**) comprende elucidar todas las interacciones en las cuales participan los azúcares y las moléculas que contienen azúcar, y los resultados de estas interacciones sobre la conducta celular.

CUADRO 46-2 Algunas funciones de las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas

- Cambio de las propiedades físico-químicas de la proteína, como solubilidad, viscosidad, carga, conformación, desnaturalización
- Proporcionan sitios de unión para diversas moléculas, así como bacterias, virus y algunos parásitos
- Proporcionan señales de reconocimiento de superficie celular
- Protegen contra proteólisis
- Aseguran el plegamiento correcto de proteínas que son exportadas desde la célula y establecen como objetivo proteínas que muestran plegamiento incorrecto para transporte desde el retículo endoplasmático de regreso al citosol para catabolismo
- Protegen a las hormonas peptídicas y otras proteínas plasmáticas contra depuración por el hígado
- Permiten el anclaje de proteínas extracelulares en la membrana celular, y de proteínas intracelulares dentro de orgánulos subcelulares, como el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi
- Dirigen la migración intracelular, distribución y secreción de proteínas
- Afectan el desarrollo embrionario y la diferenciación de células y tejidos
- Pueden afectar sitios de metástasis seleccionados por células cancerosas

SE DISPONE DE DIVERSAS TÉCNICAS PARA DETECCIÓN, PURIFICACIÓN, ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y SÍNTESIS DE GLUCOPROTEÍNAS

En el cuadro 46-3 se listan los principales métodos usados en la detección, purificación y análisis estructural de glucoproteínas. Los métodos convencionales usados para purificar proteínas y enzimas también son aplicables a la purificación de glucoproteínas. Una vez que se ha purificado una glucoproteína, el uso de **espectrometría de masa** y de **espectroscopia con NMR de alta resolución** y **microarreglos** de glucano a menudo puede identificar las estructuras de estas cadenas de glucano. El análisis de glucoproteínas se complica por el hecho de que a menudo existen como **glucoformas** (proteínas con secuencias de aminoácidos idénticas pero que muestran microheterogeneidad de las cadenas de glucano). La naturaleza precisa de los enlaces entre los azúcares de glucoproteínas pues son importantes en la determinación de sus estructuras y funciones.

Los avances en la química sintética han permitido la síntesis de glucanos complejos que pueden probarse respecto a su activi-

CUADRO 46-3 Algunos métodos importantes usados para estudiar glucoproteínas

Método	Uso
Reactivo ácido peryódico de Schiff	Detecta glucoproteínas como bandas rosadas después de separación electroforética
Incubación de células cultivadas con azúcar radiactivo	Conduce a detección de glucoproteínas como bandas radiactivas después de separación electroforética
Tratamiento con endoglucosidasa o exoglucosidasa o fosfolipasas	Los cambios resultantes de la migración electroforética ayudan a distinguir entre proteínas con enlaces *N*-glucano, *O*-glucano, o GPI, y entre *N*-glucanos altos en manosa y complejos
Cromatografía en columna de sefarosa-lectina	Para purificar glucoproteínas o glucopéptidos que se unen a la lectina usada
Análisis con posicional después de hidrólisis con ácido	Identifica qué azúcares contiene la glucoproteína y su estequiometría
Espectrometría de masa	Proporciona información sobre la masa molecular, composición, secuencia y a veces ramificación de una cadena de glucano
Espectroscopia con NMR	Identifica azúcares específicos, su secuencia, enlaces, y la naturaleza anomérica de enlaces glucosídicos
Análisis de metilación (enlace)	Determina enlaces entre azúcares
Microarreglos para detectar secuencias de glucano	Permite la detección de secuencias de glucano específicas con un rendimiento alto

dad biológica y farmacológica. Además, se han creado métodos en los que se usan organismos como levaduras para sintetizar y secretar glucoproteínas de humano de valor terapéutico (p. ej., eritropoyetina) hacia su medio circundante.

Varias **glucosidasas** son útiles en la determinación de la estructura y la función de glucoproteínas. Las **exoglucosidasas**, como las **neuraminidasas** y las **galactosidasas**, catalizan la hidrólisis de ácido *N*-acetilneuramínico terminal y galactosa. Su uso secuencial elimina el ácido *N*-acetilneuramínico y los penúltimos residuos de galactosa de casi todas las glucoproteínas. Las **endoglucosidasas** dividen las cadenas de oligosacáridos internamente, en residuos de *N*-acetilglucosamina específicos cerca del esqueleto polipeptídico. Son útiles en la liberación de cadenas de oligosacáridos grandes para análisis estructurales.

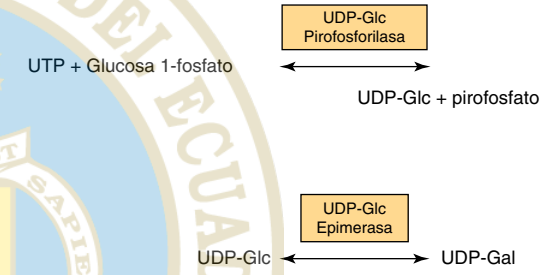
OCHO AZÚCARES PREDOMINAN EN LAS GLUCOPROTEÍNAS DE SER HUMANO

Hay alrededor de 200 monosacáridos en la Naturaleza; sin embargo, sólo ocho se encuentran comúnmente en las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas (cuadro 46-4 y capítulo 15). El ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc) por lo general se encuentra en las terminaciones de cadenas de oligosacáridos, unido a residuos de galactosa (Gal) o *N*-acetilgalactosamina (GalNAc) subterminales. Los otros azúcares listados en general se encuentran en posiciones más internas. El **sulfato** se halla a menudo en glucoproteínas, por lo general unido a Gal, GalNAc o GlcNAc.

LOS NUCLEÓTIDOS DE AZÚCAR ACTÚAN COMO DONANTES DE AZÚCAR EN MUCHAS REACCIONES BIOSINTÉTICAS

En casi todas las reacciones biosintéticas, no es el azúcar libre o fosforilado el que está involucrado, sino más bien el **nucleótido de azúcar** correspondiente (figura 18-2). En el cuadro 46-4 se listan los nucleótidos de azúcar involucrados en la biosíntesis de glucoproteínas; algunos contienen UDP y otros guanosina difosfato (GDP) o citidina monofosfato (CMP).

Casi todos los nucleótidos de azúcar se forman en el citosol, en general a partir de reacciones que comprenden el trifosfato de nucleósido correspondiente. Los ácidos CMP-siálicos se forman en el núcleo. La formación de uridina difosfato galactosa (UDP-Gal) requiere dos reacciones en tejidos de mamífero, catalizadas por la UDP-glucosa pirofosforilasa y la UDP-glucosa epimerasa:

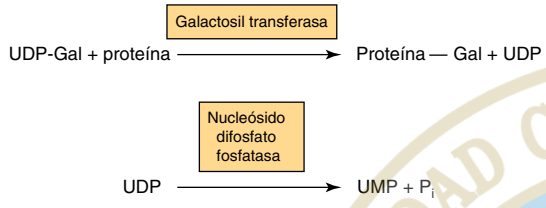


CUADRO 46-4 Los principales azúcares que se encuentran en glucoproteínas de humano[a]

Azúcar	Tipo	Abreviatura	Nucleótido de azúcar	Comentarios
Galactosa	Hexosa	Gal	UDP-Gal	A menudo se encuentra en posición subterminal a NeuAc en glucoproteínas *N*-enlazadas. Asimismo, se encuentra en el trisacárido central de proteoglucanos
Glucosa	Hexosa	Glc	UDP-Glc	Presente durante la biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas, pero por lo general no presente en glucoproteínas maduras. Presente en algunos factores de la coagulación
Manosa	Hexosa	Man	GDP-Man	Azúcar común en glucoproteínas *N*-enlazadas
Ácido *N*-acetilneuramínico	Ácido siálico (nueve átomos de C)	NeuAc	CMP-NeuAc	A menudo el azúcar terminal en glucoproteínas tanto *N*-enlazadas como *O*-enlazadas. También se encuentran otros tipos de ácido siálico, pero NeuAc es la principal especie que se encuentra en seres humanos. Los grupos acetilo también pueden ocurrir como especies *O*-acetilo, así como *N*-acetilo
Fucosa	Desoxihexosa	Fuc	GDP-Fuc	Puede ser externa en glucoproteínas tanto *N*-enlazadas como *O*-enlazadas, o interna, enlazada al residuo de GlcNAc fijo a Asn en especies *N*-enlazadas. También puede ocurrir internamente unida al OH de Ser (p. ej., en el t-PA y en ciertos factores de la coagulación)
N-acetilgalactosamina	Amino hexosa	GalNAc	UDP-GalNAc	Presente en glucoproteínas tanto *N*-enlazadas como *O*-enlazadas
N-acetilglucosamina	Amino hexosa	GlcNAc	UDP-GlcNAc	El azúcar unido a la cadena polipeptídica por medio de Asn en glucoproteínas *N*-enlazadas; también se encuentra en otros sitios en los oligosacáridos de estas proteínas. Muchas proteínas nucleares tienen GlcNAc unida al OH de Ser o Tre como un azúcar único
Xilosa	Pentosa	Xyl	UDP-Xyl	La Xil está unida al OH de Ser en muchos proteoglucanos. A su vez, la Xil está unida a dos residuos de Gal, lo cual forma un enlace trisacárido. La Xil también se encuentra en el t-PA y en ciertos factores de la coagulación

[a] Las estructuras de estos azúcares se ilustran en el capítulo 15.

Dado que muchas reacciones de glucosilación ocurren dentro de la luz del aparato de Golgi, se requieren **sistemas acarreadores** (permeasas y transportadores) para transportar nucleótidos de azúcar a través de la membrana de Golgi. Hay sistemas para transportar UDP-Gal, GDP-Man y CMP-NeuAc. Son sistemas **antiportador**; el flujo hacia adentro de una molécula de nucleótido de azúcar es equilibrado por el flujo de salida de una molécula del nucleótido correspondiente (UMP, GMP o CMP) formado a partir de los azúcares del nucleótido de azúcar. Este mecanismo asegura una concentración adecuada de cada nucleótido de azúcar dentro del aparato de Golgi. El UMP se forma a partir de UDP-Gal en reacciones catalizadas por la galactosil transferasa y nucleósido difosfato fosfatasa:



EL RECEPTOR DE ASIALOGLUCOPROTEÍNA DE MAMÍFEROS ESTÁ INVOLUCRADO EN LA DEPURACIÓN DE GLUCOPROTEÍNAS DEL PLASMA POR HEPATOCITOS

Muchas hormonas peptídicas y casi todas las proteínas plasmáticas, son glucoproteínas. El tratamiento de la proteína con neuraminidasa elimina la porción de ácido *N*-acetilneuramínico terminal, lo que expone el residuo de galactosa subterminal. Esta asialoglucoproteína es eliminada de la circulación con rapidez mucho mayor que la glucoproteína intacta. Las células hepáticas contienen un **receptor de asialoglucoproteína** que reconoce la porción galactosa de muchas proteínas plasmáticas desialiladas y lleva a su endocitosis y catabolismo.

LAS LECTINAS PUEDEN USARSE PARA PURIFICAR GLUCOPROTEÍNAS Y PARA INVESTIGAR SUS FUNCIONES

Las lectinas son **proteínas de unión a carbohidrato** que aglutinan células o precipitan glucoconjugados; varias lectinas son por sí mismas glucoproteínas. No se considera que las inmunoglobulinas que reaccionan con azúcares sean lectinas. Las lectinas contienen al menos dos sitios de unión a azúcar; las proteínas que sólo tienen un sitio de unión a azúcar único no aglutinarán células ni precipitarán glucoconjugados. La especificidad de una lectina por lo general se define por los azúcares que son más capaces de inhibir su capacidad para causar aglutinación o precipitación. Las lectinas se descubrieron por vez primera en plantas y microbios, pero ahora se conocen muchas lectinas de origen animal. El receptor de asialoglucoproteína de mamífero antes descrito es una de esas lectinas de origen animal. Las lectinas de plantas se llamaban **fitohemaglutininas**, debido a su capacidad para aglutinar eritrocitos al reaccionar con las glucoproteínas de superficie celular. Las lectinas no desnaturalizadas en legumbres cocinadas de manera insuficiente pueden llevar a decorticación grave de la mucosa intestinal al aglutinar las células de la mucosa. En el **cuadro 46-5** se listan algunas lectinas importantes.

CUADRO 46-5 Algunas lectinas importantes

Lectinas	Ejemplos o comentarios
Lectinas de legumbres	Concanavalina A, lectina de chícharo (guisante)
Aglutinina de germen de trigo	Ampliamente usada en estudios de superficies de células normales y células cancerosas
Ricino	Glucoproteína citotóxica derivada de semillas de la planta de ricino
Toxinas bacterianas	Enterotoxina lábil al calor de *E. coli* y toxina del cólera
Hemaglutinina del virus de la gripe	Se encarga de la fijación a la célula huésped y la fusión de membrana
Lectinas tipo C	Se caracterizan por un dominio de reconocimiento de carbohidrato (CRD) dependiente de Ca^{2+}; incluye el receptor de asialoglucoproteína de mamífero, las selectinas y la proteína de unión a manosa
Lectinas tipo S	Lectinas animales de unión a β-galactósido con papeles en interacciones célula-célula y célula-matriz
Lectinas tipo P	Receptor de manosa 6-P
Lectinas tipo I	Miembros de la superfamilia de inmunoglobulina, por ejemplo, la sialoadenina media la adhesión de macrófagos a diversas células

Muchas lectinas se han purificado y se encuentran disponibles en el comercio; en el **cuadro 46-6** se listan tres lectinas de plantas que han sido objeto de uso experimental amplio. Se usan para purificar glucoproteínas, como herramientas para sondear los perfiles de glucoproteína de superficies celulares, y como reactivos para generar células mutantes deficientes en ciertas enzimas involucradas en la biosíntesis de cadenas de oligosacáridos.

CUADRO 46-6 Tres lectinas de plantas y los azúcares con los cuales interactúan

Lectina	Abreviatura	Azúcares
Concanavalina A	ConA	Man y Glc
Lectina de soya		Gal y GalNAc
Aglutinina de germen de trigo	WGA	Glc y NeuAc

HAY TRES CLASES PRINCIPALES DE GLUCOPROTEÍNAS

Las glucoproteínas pueden dividirse en tres grupos principales, con base en la naturaleza del enlace entre las cadenas de polipéptido y oligosacárido (**figura 46-1**); hay otras clases menores de glucoproteína:

1. Las que contienen un **enlace *O*-glucosídico** (*O*-enlazadas), que comprenden la cadena lateral hidroxilo de serina y treonina (y a veces también tirosina), y un azúcar como la *N*-acetilgalactosamina (GalNAc-Ser [Tre]).
2. Las que contienen un **enlace *N*-glucosídico** (*N*-enlazadas), que comprenden el nitrógeno amida de la asparagina y la *N*-acetilglucosamina (GlcNAc-Asn).
3. Las enlazadas al aminoácido carboxilo terminal de una proteína por medio de una porción fosforil-etanolamina unida a un oligosacárido (glucano) que, a su vez, está unido por medio de glucosamina al fosfatidilinositol (PI). Éstas son glucoproteínas **glucosilfosfatidilinositol-ancladas (GPI-ancladas)**. Entre otras funciones, están involucradas en la dirección de glucoproteínas a las áreas apical y basolateral de la membrana plasmática (PM) de células epiteliales polarizadas (véanse el capítulo 40 y más adelante).

El número de cadenas de oligosacáridos unidas a una proteína puede variar de 1 a 30 o más; las cadenas de azúcar varían desde uno o dos residuos de longitud hasta estructuras mucho más grandes. La cadena de glucano puede ser lineal o ramificada. Muchas proteínas contienen más de un tipo de cadena de azúcar; por ejemplo, la **glucoforina**, una importante glucoproteína de la membrana eritrocítica (capítulo 53), contiene oligosacáridos tanto *O*- como *N*-enlazados.

LAS GLUCOPROTEÍNAS CONTIENEN VARIOS TIPOS DE ENLACES *O*-GLUCOSÍDICOS

Al menos cuatro subclases de enlaces *O*-glucosídicos se encuentran en glucoproteínas de ser humano:

1. El enlace **GalNAc-Ser(Tre)** (figura 46-1) es el enlace predominante. Por lo general un residuo de galactosa o ácido *N*-acetilneuramínico está unido a la *N*-acetilgalactosamina, pero se encuentran muchas variaciones de las composiciones de azúcar y las longitudes de esas cadenas de oligosacáridos. Este tipo de enlace se encuentra en las **mucinas** (véase más adelante).
2. Los **proteoglucanos** contienen un trisacárido **Gal-Gal-Xil-Ser** (el llamado enlace trisacárido).
3. Los **colágenos** (capítulo 50) contienen un enlace **Gal-hidroxilisina (Hil)**.
4. Muchas **proteínas nucleares y citosólicas** contienen cadenas laterales que constan de una *N*-acetilglucosamina única unida a un residuo de serina o treonina **(GlcNAc-Ser[Tre])**.

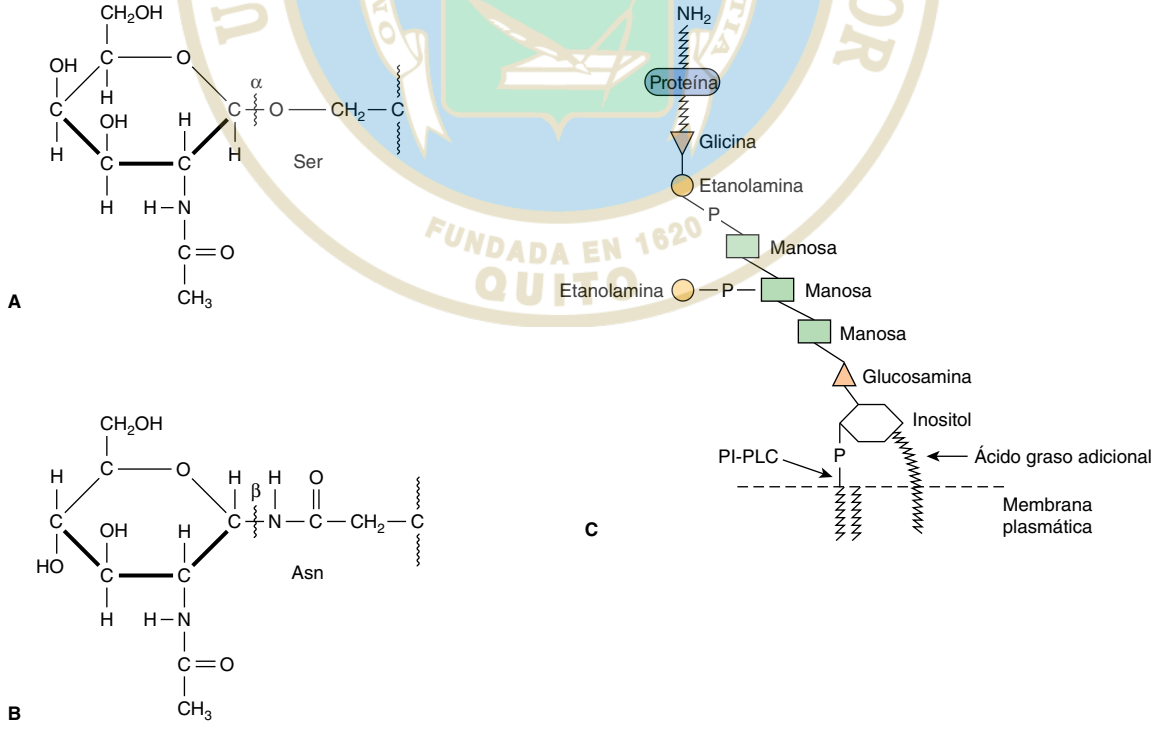


FIGURA 46-1 Los tres principales tipos de glucoproteína. (A) Un O-enlace (*N*-acetilgalactosamina a serina), (B) un *N*-enlace (*N*-acetilglucosamina a asparagina), y (C) un enlace glucosilfosfatidilinositol (GPI). La estructura del GPI que se muestra es la que enlaza la acetilcolinesterasa a la membrana plasmática de los eritrocitos de humano. Se indica el sitio de acción de la PI-fosfolipasa C (PI-PLC), que libera la enzima de la unión a membrana. Este GPI particular contiene un ácido graso extra fijo a inositol, y una porción de fosforiletanolamina extra unida a la parte central del residuo de manosa. Las variaciones encontradas entre diferentes estructuras de GPI incluyen la identidad del aminoácido carboxilo terminal, las moléculas fijas a los residuos de manosa y la naturaleza precisa de la porción de lípido.

Las mucinas tienen un alto contenido de oligosacáridos *O*-enlazados y muestran secuencias de aminoácidos repetitivas

Las mucinas son glucoproteínas con dos características distintivas: un contenido alto de **oligosacáridos *O*-enlazados** (las mucinas por lo general contienen más de 50% de carbohidratos), y la presencia de **números variables de repeticiones en tándem (VNTR)** de secuencia peptídica en el centro de sus esqueletos polipeptídicos, a las cuales las cadenas de *O*-glucano están unidas en agrupaciones. Estas secuencias de repeticiones en tándem son ricas en serina, treonina y prolina; de hecho, hasta 60% del requerimiento de treonina en la dieta puede explicarse por la síntesis de mucinas. Si bien predominan los *O*-glucanos, las mucinas a menudo también contienen varias cadenas de *N*-glucano. En el cuadro 46-7 se resumen algunas propiedades importantes de las mucinas.

Hay mucinas tanto **secretoras** como **unidas a membrana**. El **moco** secretado por los tractos gastrointestinal, respiratorio y reproductor es una solución que contiene alrededor de 5% de mucinas. Las mucinas secretoras por lo general tienen una estructura oligomérica; los monómeros están enlazados por enlaces disulfuro y, por ende, tienen una masa molecular muy alta. El moco tiene una **viscosidad** alta, y a menudo forma un **gel** debido a su contenido de mucinas. El contenido alto de *O*-glucanos confiere una estructura extendida. Esto se explica en parte por interacciones estéricas entre las porciones GalNAc y aminoácidos adyacentes, lo que da por resultado un efecto de rigidez de cadena, de modo que la conformación de mucinas a menudo adopta la forma de bastones rígidos. Las interacciones no covalentes intermoleculares entre azúcares en cadenas de glucano vecinas contribuyen a la formación de gel. El contenido alto de **NeuAc** y residuos de **sulfato** que se encuentra en muchas mucinas les confiere una carga negativa.

Las mucinas ayudan a **lubricar** y forman una **barrera física protectora** sobre superficies epiteliales. Son muy resistentes a la proteólisis porque la densidad de las cadenas de oligosacáridos hace difícil que las **proteasas** tengan acceso a sus esqueletos polipeptídicos.

Las mucinas unidas a membrana participan en **interacciones célula-célula**. También pueden enmascarar antígenos de superficie celular. Muchas células cancerosas forman grandes cantidades de mucinas que enmascaran los antígenos de superficie y protegen a dichas células de la vigilancia inmunitaria. Las mucinas también portan epítopos peptídicos y de carbohidrato específicos para cáncer. Algunas de éstas se han usado para estimular una respuesta inmunitaria contra células cancerosas.

CUADRO 46-7 Algunas propiedades de las mucinas

Se encuentran en secreciones de los tractos gastrointestinal, respiratorio y reproductor, y en membranas de diversas células
Muestran contenido alto de cadenas de *O*-glucano; por lo general contienen NeuAc
Contienen secuencias de aminoácidos repetitivas ricas en serina, treonina y prolina
La estructura extendida contribuye a su viscoelasticidad alta
Muy resistentes a proteólisis
Forman una barrera física protectora sobre células epiteliales, están involucradas en interacciones célula-célula, y pueden contener o enmascarar ciertos antígenos de superficie

Las glucoproteínas *O*-enlazadas se sintetizan mediante la adición secuencial de azúcares que provienen de nucleótidos azúcar

Dado que casi todas las glucoproteínas están unidas a membrana o son secretadas, su mRNA por lo general se traduce en polirribosomas unidos a membrana (capítulo 37). Las cadenas de glucano se construyen mediante la **donación secuencial de azúcares que provienen de nucleótidos azúcar**, catalizada por **glucoproteína glucosiltransferasas**. Hay 41 tipos de glucoproteína glucosiltransferasas. Las familias de glucosiltransferasas reciben su nombre con base en el nucleótido de azúcar donante, y las subfamilias, con base en el enlace que se forma entre el azúcar y el sustrato aceptor; puede ocurrir transferencia con retención o inversión de la conformación en el C-1 del azúcar. La unión del nucleótido de azúcar a la enzima causa un cambio conformacional en la enzima, que permite unión del sustrato aceptor. Las glucosiltransferasas muestran un alto grado de especificidad por el sustrato aceptor, que típicamente sólo actúa sobre el producto de la reacción precedente. Las diferentes etapas en la formación de glucano y, por ende, las diferentes glucosiltransferasas, están ubicadas en diferentes regiones del aparato de Golgi, de modo que hay separación espacial de los diferentes pasos en el proceso. No todas las cadenas de glucano de una glucoproteína dada están completas; algunas están truncadas, lo que conduce a microheterogeneidad. No se conoce una secuencia de consenso para determinar cuáles residuos de serina y treonina están glucosilados, pero la primera porción azúcar incorporada por lo general es *N*-acetilgalactosamina. En el **cuadro 46-8** se resumen las principales características de la biosíntesis de glucoproteínas *O*-enlazadas.

LAS GLUCOPROTEÍNAS *N*-ENLAZADAS CONTIENEN UN ENLACE Asn-GLcNAc

Las glucoproteínas *N*-enlazadas son la principal clase de glucoproteínas, incluso glucoproteínas tanto **unidas a membrana** como **circulantes**. Se distinguen por la presencia del enlace asparagina-guión *N*-acetilglucosamina (Figura 46-1). Hay tres clases

CUADRO 46-8 Resumen de las principales características de la *O*-glucosilación

• Comprende una batería de glucoproteína glucosiltransferasas unidas a membrana que actúan de una manera por pasos; cada transferasa por lo general es específica para un tipo de enlace particular
• Las enzimas involucradas están situadas en diversos subcompartimentos del aparato de Golgi
• Cada reacción de glucosilación comprende el nucleótido de azúcar apropiado
• El dolicol-P-P-glucosa oligosacárido no está involucrado; tampoco están involucradas las glucosidasas, y las reacciones no son inhibidas por tunicamicina
• La *O*-glucosilación ocurre después de la traducción en ciertos residuos de Ser y Tre

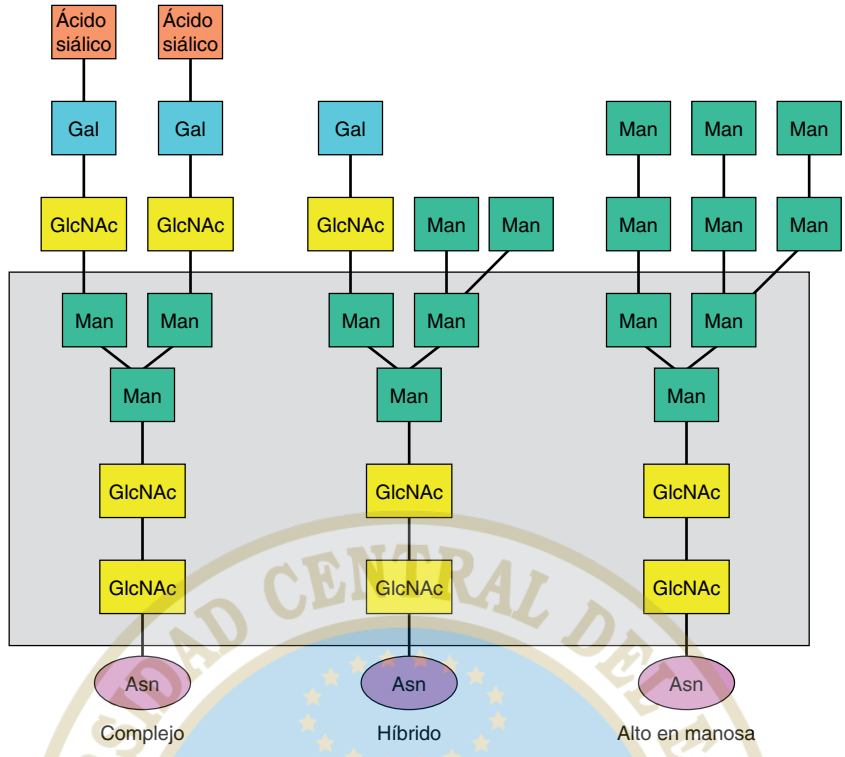


FIGURA 46-2 Estructuras de los principales tipos de oligosacáridos enlazados a asparagina. El área encerrada en un cuadro encierra el centro pentasacárido común a todas las glucoproteínas *N*-enlazadas.

principales de oligosacáridos *N*-enlazados: **complejos, altos en manosa** e **híbridos**. Las tres clases tienen el mismo pentasacárido ramificado, $Man_3GlcNAc_2$, unido a la asparagina, pero difieren en sus ramas externas (**figura 46-2**).

Los oligosacáridos complejos contienen 2, 3, 4 o 5 ramas externas. Las ramas de oligosacárido a menudo se denominan **antenas**, de modo que pueden encontrarse estructuras biantenarias, triantenarias, tetraantenarias, y pentaantenarias. Por lo general contienen residuos de ácido *N*-acetilneuramínico terminales, y residuos de galactosa y de *N*-acetilglucosamina subyacentes; estos últimos a menudo constituyen el disacárido *N*-acetillactosamina. A menudo se encuentran **unidades de *N*-acetilgalactosamina** repetitivas—[Galβ1–3/4GlcNAcβ1–3]*n* (poli-*N*-acetillactosaminoglucanos) en cadenas de glucano *N*-enlazadas. Las sustancias de grupo sanguíneo I/i pertenecen a esta clase. Hay un número desconcertante de cadenas del tipo complejo, y la indicada en la figura 46-2 es sólo una de muchas. Otras cadenas complejas pueden terminar en galactosa o fucosa.

Los oligosacáridos altos en manosa típicamente tienen dos a seis residuos de manosa adicionales enlazados al centro de pentasacárido. Las moléculas híbridas contienen características de las dos otras clases.

La biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas comprende dolicol-P-P-oligosacárido

La presencia del **pentasacárido común** en glucoproteínas *N*-enlazadas se explica por el hecho de que comparten un mecanismo de biosíntesis común inicial, en el cual un oligosacárido ramificado es sintetizado unido a **dolicol pirofosfato** (**figura 46-3**) en el lado citosólico de la membrana del retículo endoplasmático y después es translocado a la luz del retículo endoplasmático, donde pasa por más glucosilación, antes de que la cadena de oligosacárido es transferida por una oligosacariltransferasa sobre un residuo de asparagina de la apoproteína aceptora conforme entra al retículo endoplasmático durante la síntesis sobre polirribosomas unidos a membrana. Así, ésta es una modificación cotraduccional. En muchas de las glucoproteínas *N*-enlazadas hay una secuencia de consenso de Asn-X-Ser/Tre (donde X = cualquier aminoácido que no es prolina) para determinar el sitio de glucosilación; en otras no hay una secuencia consenso clara para glucosilación.

El primer paso es una reacción entre UDP-*N*-acetilglucosamina y dolicol fosfato, lo que forma *N*-acetilglucosamina-dolicol pirofosfato (**figura 46-4**). Una segunda *N*-acetilglucosamina es añadida desde la UDP-*N*-acetilglucosamina, seguida por la adición de cinco moléculas de manosa provenientes de GDP-manosa. El oligosacárido dolicol pirofosfato a continuación es translocado hacia la luz del retículo endoplasmático, y se añaden moléculas adicionales de manosa y glucosa, para formar el oligosacárido dolicol pirofosfato final, usando dolicol-fosfato manosa y dolicol fosfato-glucosa como los donantes. El oligosacárido dolicol pirofosfato a continuación es transferido sobre el residuo de asparagina aceptor de la cadena de proteína naciente.

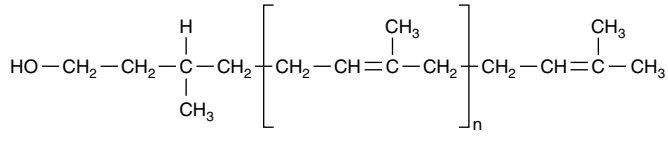


FIGURA 46-3 La estructura del dolicol fosfato. El grupo dentro de los corchetes es una unidad de isopreno (*n* = 17 a 20 unidades de isoprenoide).

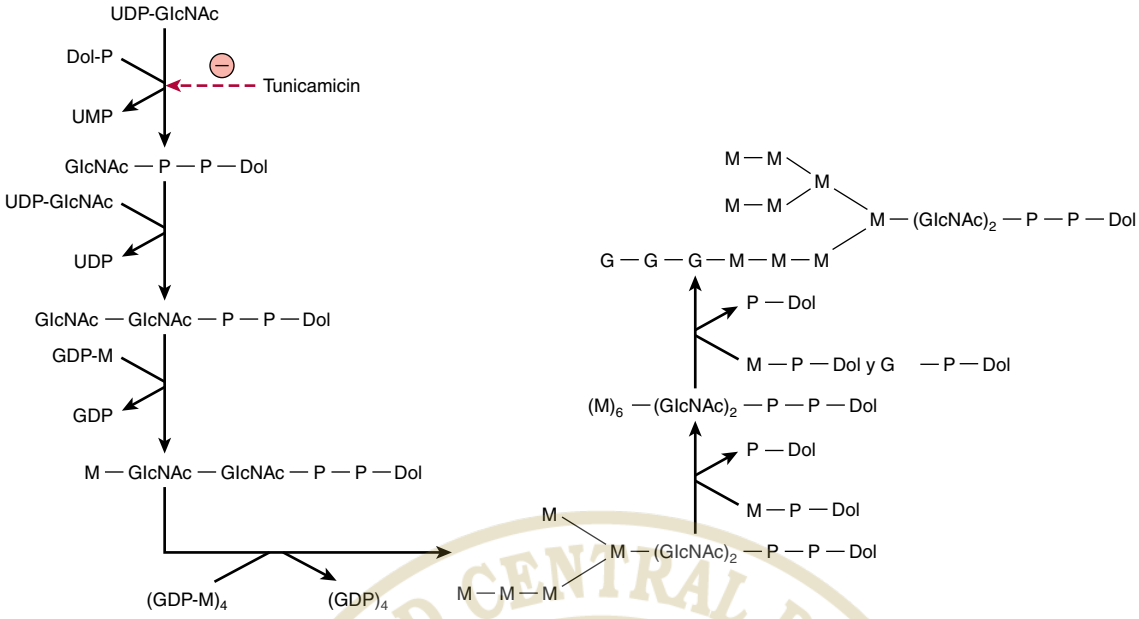


FIGURA 46-4 Vía de la biosíntesis del oligosacárido dolicol pirofosfato. Note que los primeros cinco residuos de manosa internos son donados por la GDP manosa, mientras que los residuos de manosa más externos y los residuos de glucosa son donados por la dolicol-P-manosa y la dolicol-P-glucosa. (UDP, uridina difosfato; Dol, dolicol; P, fosfato; UMP, uridina monofosfato; GDP, guanosina difosfato).

En el **cuadro 46-9** se listan las principales características de la *N*-glucosilación.

Para formar cadenas **altas en manosa**, la glucosa y algunos de los residuos de manosa periféricos se eliminan mediante glucosidasas. Para formar una cadena de oligosacárido del **tipo complejo,** los residuos de glucosa y cuatro de los residuos de manosa son eliminados por glucosidasas en el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi, y después se añaden *N*-acetilglucosamina, galactosa y ácido *N*-acetilneuramínico en reacciones catalizadas por glucosiltransferasas en el aparato de Golgi. Las **cadenas híbridas** se forman mediante procesamiento parcial, lo cual forma cadenas complejas en un extremo y unidades de manosa en el otro extremo.

CUADRO 46-9 Resumen de las principales características de la *N*-glucosilación

• El oligosacárido $Glc_3Man_9(GlcNAc)_2$ es transferido desde dolicol-P-P-oligosacárido en una reacción catalizada por oligosacárido:proteína transferasa, que es inhibida por la tunicamicina
• La transferencia ocurre a residuos de Asn específicos en la secuencia AsnX-Ser/Tre, donde X es cualquier residuo, excepto Pro, Asp o Glu
• La transferencia puede ocurrir de manera cotraduccional en el retículo endoplasmático
• El oligosacárido unido a proteína a continuación es parcialmente procesado por glucosidasas y manosidasas; si no se añaden azúcares adicionales, esto da por resultado una cadena alta en manosa
• Si el procesamiento ocurre por el heptasacárido central ($Man_5[GlcNAc]_2$), se sintetizan cadenas complejas por la adición de GlcNAc, eliminación de dos Man, y la adición por pasos de azúcares individuales en reacciones catalizadas por transferasas específicas (p. ej., GlcNAc, Gal, NeuAc transferasas) que emplean nucleótidos de azúcar apropiados

Las glucoproteínas y la calnexina aseguran el plegamiento correcto de proteínas en el retículo endoplasmático

La **calnexina** es una proteína chaperona en la membrana del retículo endoplasmático; la unión a calnexina evita que una glucoproteína se agregue. Es una lectina, que reconoce secuencias de carbohidrato específicas en la cadena de glucano de la glucoproteína. Las glucoproteínas que muestran plegamiento incorrecto pasan por desglucosilación parcial, y son establecidas como objetivo para ser transportadas desde el retículo endoplasmático de regreso al citosol para catabolismo.

La calnexina se une a glucoproteínas que poseen una estructura central monoglucosilada de la cual se ha eliminado la glucosa terminal, lo cual sólo deja la glucosa más interna unida. La calnexina y la glucoproteína unida forman un complejo con **ERp57**, un homólogo de la proteína disulfuro isomerasa, que cataliza el intercambio de enlace disulfuro, lo cual facilita el plegamiento apropiado. La glucoproteína unida es liberada de su complejo con calnexina-ERp57 cuando la única glucosa remanente es hidrolizada por una glucosidasa y entonces queda disponible para secreción si muestra plegamiento apropiado. Si no muestra plegamiento apropiado, una **glucosiltransferasa** reconoce esto y reglucosila la glucoproteína, que se vuelve a unir al complejo de calnexina-ERp57. Si ahora muestra plegamiento apropiado, la glucoproteína es desglucosilada de nuevo y secretada. Si carece de la capacidad de plegamiento apropiado, es translocada hacia fuera del retículo endoplasmático hacia el citosol para catabolismo. La glucosiltransferasa detecta el plegamiento de la glucoproteína, y sólo reglucosila proteínas que muestran plegamiento inapropiado. La proteína del retículo endoplasmático soluble **calreticulina** efectúa una función similar a la de la calnexina.

Varios factores regulan la glucosilación de glucoproteínas

La glucosilación de glucoproteínas es un proceso complejo que involucra un gran número de enzimas; alrededor de 1% del genoma humano codifica para genes que están involucrados en la glucosilación de proteína. Hay al menos 10 GlcNAc transferasas distintas. También hay múltiples especies de las otras glucosiltransferasas (p. ej., sialiltransferasas). Los factores controladores en la primera etapa de la biosíntesis de glucoproteína *N*-enlazada (montaje y transferencia del oligosacárido dolicol pirofosfato) incluyen no sólo la disponibilidad de los nucleótidos azúcar, sino también la presencia de sitios aceptores idóneos en proteínas, la concentración tisular de dolicol fosfato, y la actividad del oligosacárido: proteína transferasa.

En el **cuadro 46-10** se listan algunos factores que se sabe que están involucrados en la regulación del **procesamiento de oligosacárido**. Las **variaciones de especie** entre enzimas procesadoras son importantes en relación con la producción de glucoproteínas de uso terapéutico por medio de tecnología de DNA recombinante. Por ejemplo, la **eritropoyetina** (EPO) **recombinante** se administra a pacientes que presentan algunos tipos de anemia crónica, para estimular la eritropoyesis. La vida media de la eritropoyetina en el plasma está influida por su patrón de glucosilación; algunos patrones se asocian con una vida media breve, lo cual limita su eficacia terapéutica. De este modo, es importante recolectar EPO a partir de células huésped que confieren un patrón de glucosilación congruente con una vida media normal en el plasma.

CUADRO 46-10 Algunos factores que afectan las actividades de enzimas de procesamiento de glucoproteína

Factor	Comentario
Tipo de célula	Diferentes tipos de células contienen diferentes perfiles de enzimas de procesamiento
Enzima previa	Ciertas glucosiltransferasas actúan sólo sobre una cadena de oligosacárido si otra enzima procesadora ya ha actuado sobre ella[a]
Desarrollo	El perfil celular de enzimas de procesamiento puede cambiar durante el desarrollo si sus genes están activados o desactivados
Ubicación intracelular	Por ejemplo, si una enzima está destinada para inserción en la membrana del ER (p. ej., HCM-CoA-reductasa), puede nunca encontrar enzimas de procesamiento ubicadas en el aparato de Golgi
Conformación de proteína	Las diferencias en la conformación de diferentes proteínas pueden facilitar u obstaculizar el acceso de enzimas de procesamiento a cadenas de oligosacárido idénticas
Especie	Las mismas células (p. ej., fibroblastos) de diferentes especies pueden mostrar diferentes patrones de enzimas de procesamiento
Cáncer	Las células cancerosas pueden mostrar enzimas de procesamiento diferentes de las de células normales correspondientes

[a] Por ejemplo, se necesita la acción previa de GlcNAc transferasa I para la acción de la α-manosidasa II del aparato de Golgi.

También hay gran interés en el análisis de las actividades de enzimas procesadoras de glucoproteína en diversos tipos de **células cancerosas**. A menudo se ha encontrado que estas células sintetizan cadenas de oligosacáridos diferentes de las sintetizadas en células normales (p. ej., a menudo muestran mayor ramificación). Esto podría deberse a que las células cancerosas expresan patrones de glucosiltransferasas que difieren de los que se encuentran en células normales, como resultado de activación o represión de gen específico. Las diferencias en cadenas de oligosacáridos podrían afectar las interacciones adhesivas entre células cancerosas y sus células tisulares parentales normales, lo cual contribuye a metástasis.

ALGUNAS PROTEÍNAS ESTÁN ANCLADAS A LA MEMBRANA PLASMÁTICA MEDIANTE ESTRUCTURAS DE GLUCOFOSFATIDIL-INOSITOL

La tercera clase principal de glucoproteínas consta de las proteínas unidas a membrana que están fijas a la bicapa lipídica mediante una cola de glucofosfatidilinositol (GPI) (figura 46-1). El enlace de GPI es la manera más común en la cual diversas proteínas están ancladas a membranas celulares.

Las proteínas están ancladas a la cara externa de la membrana plasmática o la cara interna (luminal) de la membrana en vesículas secretoras mediante los ácidos grasos del fosfatidil inositol. El fosfatidil inositol está enlazado por medio de *N*-acetilglucosamina a una cadena de glucano que contiene diversos azúcares, entre ellos manosa y glucosamina. A su vez, la cadena de oligosacárido está enlazada por medio de fosforiletanolamina en un enlace amida al aminoácido carboxilo terminal de la proteína unida. Se encuentran constituyentes adicionales en muchas estructuras de GPI; por ejemplo, la que se muestra en la figura 46-1 contiene una fosforiletanolamina extra unida a la parte media de las tres porciones de manosa del glucano, y un ácido graso extra unido a la glucosamina. En el **cuadro 46-11** se dan ejemplos de algunas proteínas que están ancladas mediante enlace de GPI.

Hay tres funciones posibles de este enlace de GPI:

1. El anclaje GPI permite **movilidad** muy aumentada de una proteína en la membrana plasmática en comparación con la que ocurre para una proteína que contiene secuencias transmembrana. El anclaje GPI sólo está unido a la cara externa de la bicapa lipídica, de modo que está más libre para difun-

CUADRO 46-11 Algunas proteínas GPI-enlazadas

- Acetilcolinesterasa (membrana de eritrocitos)
- Fosfatasa alcalina (intestinal, placentaria)
- Factor acelerador de la descomposición (membrana de eritrocitos)
- 5′-Nucleotidasa (linfocitos T, otras células)
- Antígeno Tim-1 (cerebro, linfocitos T)
- Glucoproteína de superficie variable *(Trypanosoma brucei)*

dirse que una proteína anclada por medio de ambas capas de la membrana. La movilidad aumentada puede ser importante en la facilitación de respuestas rápidas a estímulos.

2. Algunas anclas de GPI pueden conectarse con vías de **transducción de señal**, de modo que las proteínas que no tienen un dominio transmembrana pueden, no obstante, ser receptores para hormonas y otras señales de superficie celular.
3. Las estructuras de GPI pueden **dirigir** proteínas al dominio apical o basolateral de la membrana plasmática de células epiteliales polarizadas.

El anclaje GPI es preformado en el retículo endoplasmático, y a continuación es unido a la proteína después de que se completa la síntesis ribosomal. Los productos de traducción primarios de proteínas ancladas con GPI no sólo tienen una secuencia de señal amino terminal que las dirige al retículo endoplasmático durante la síntesis, sino también un dominio hidrofóbico carboxilo terminal que actúa como la señal para fijación del anclaje GPI. La primera etapa en la síntesis del anclaje GPI es la inserción de los ácidos grasos del fosfatidil inositol hacia la cara luminal de la membrana del retículo endoplasmático, seguida por glucosilación, empezando con esterificación de la *N*-acetilglucosamina al grupo fosfato del fosfatidil inositol. Una porción fosfoetanolamina terminal es añadida a la cadena de glucano completada. El dominio carboxilo terminal hidrofóbico de la proteína es desplazado por el grupo amino de la etanolamina en la reacción de transamidación que forma el enlace amida entre el anclaje GPI y un residuo de aspartato en la proteína.

ALGUNAS PROTEÍNAS PASAN POR GLUCOSILACIÓN RÁPIDAMENTE REVERSIBLE

Muchas proteínas, entre ellas proteínas de poro nuclear, proteínas del citoesqueleto, factores de transcripción y proteínas asociadas con cromatina, así como proteínas oncogén nucleares y proteínas supresoras tumorales, pasan por *O*-glucosilación con una porción de azúcar única, *N*-acetilglucosamina. Ésta es una glucosilación rápidamente reversible. Los sitios de glucosilación de serina y treonina son los mismos que los de fosforilación de estas proteínas, y la glucosilación y fosforilación ocurren de manera recíproca en respuesta a la señalización celular.

La *N*-acetilglucosamina transferasa *O*-enlazada que cataliza esta glucosilación usa UDP-*N*-acetilglucosamina como el donante de azúcar, y tiene actividad de fosfatasa, de modo que puede reemplazar directamente un fosfato de serina o treonina con *N*-acetilglucosamina. No hay secuencia de consenso absoluta para la reacción, pero alrededor de la mitad de los sitios que están sujetos a glucosilación y fosforilación recíprocas son Pro-Val-Ser. La enzima es activada por fosforilación en respuesta a la acción de la insulina, y la *N*-acetilglucosamina es eliminada (dejando el sitio disponible para fosforilación) por *N*-acetilglucosaminidasa.

Tanto la actividad como la especificidad de péptido de la *N*-acetilglucosamina *O*-enlazada transferasa dependen de la concentración de UDP-*N*-acetilglucosamina. Dependiendo del tipo de célula, hasta 2 a 5% del metabolismo de la glucosa se efectúa por medio de la vía de la hexosamina, lo cual da pie a la formación de *N*-acetilglucosamina, lo que da a la *N*-acetilglucosamina transferasa *O*-enlazada una función en la detección de nutrientes en la célula. La *O*-glucosilación excesiva con *N*-acetilglucosamina (y, por ende, fosforilación reducida) de proteínas blanco está implicada en la **resistencia a la insulina** y la toxicidad por glucosa en la **diabetes mellitus**, así como en enfermedades neurodegenerativas.

LOS PRODUCTOS TERMINALES DE GLUCACIÓN AVANZADA (AGE) SON IMPORTANTES EN LA CAUSA DEL DAÑO TISULAR EN LA DIABETES MELLITUS

La **glucación** es la unión no enzimática de azúcares (principalmente glucosa) a grupos amino de proteínas (y a otras moléculas, entre ellas DNA y lípidos). La glucación se distingue de la **glucosilación** que es la unión de azúcares catalizada por enzima. Inicialmente, la glucosa forma una **base de Schiff** a la proteína del grupo amino, que a continuación pasa por el **reordenamiento de Amadori** para dar cetoaminas (**figura 46-5**), y reacciones adicionales para dar **productos terminales de glucación avanzada (AGE)**. La serie de reacciones general se conoce como la **reacción de Maillard**, que está involucrada en la **adquisición de un color pardo** de ciertos comestibles durante almacenamiento o calentamiento, y proporciona gran parte del sabor de ciertos alimentos.

Los productos terminales de glucación avanzada subyacen el **daño tisular** en la **diabetes mellitus** mal controlada. Cuando la concentración de glucosa en sangre está constantemente alta, hay glucación aumentada de proteínas. La glucación de colágeno y otras proteínas en la matriz extracelular altera sus propiedades (p. ej., al aumentar la **formación de enlaces covalentes de colágeno**). La formación de enlaces covalentes puede llevar a la acumulación de diversas proteínas plasmáticas en las paredes de los vasos sanguíneos; en particular, la acumulación de **LDL** puede contribuir a la **aterogénesis.** Los AGE parecen estar involucrados en el daño tanto **microvascular** como **macrovascular** en la diabetes mellitus (**figura 46-6**). Las células endoteliales y

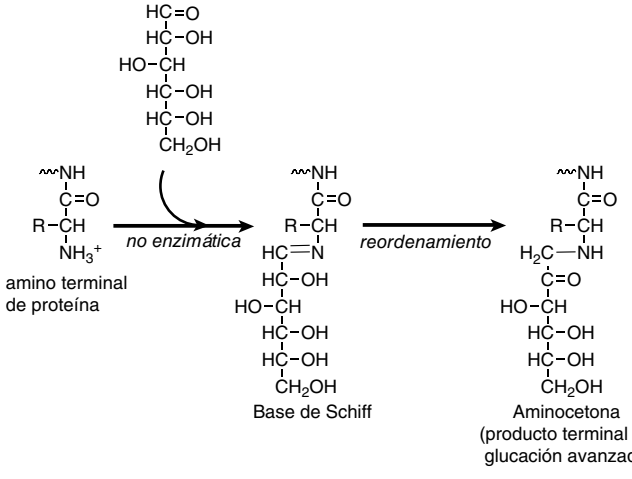


FIGURA 46-5 **Formación de productos terminales de glucación avanzada a partir de glucosa**.

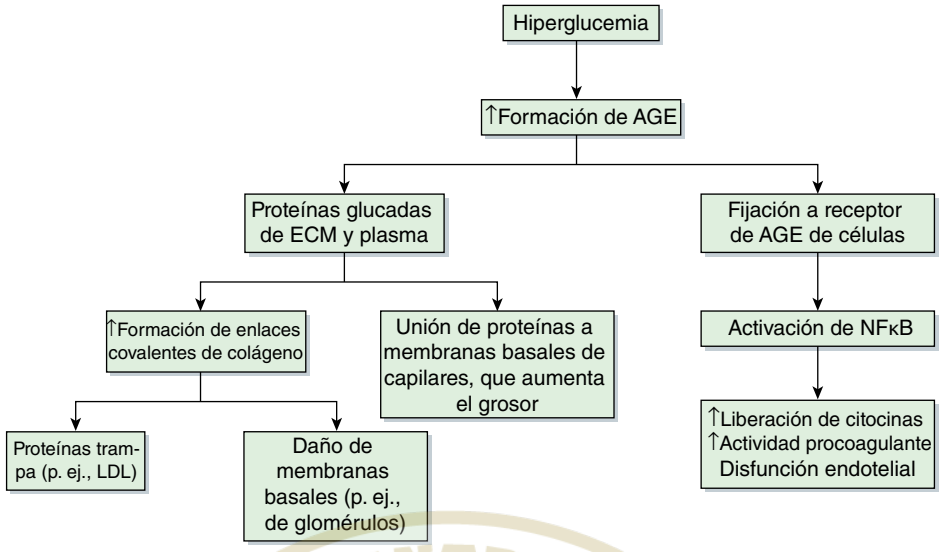


FIGURA 46-6 **Algunas consecuencias de la formación de productos terminales de glucación avanzada.**

los macrófagos tienen receptores de AGE sobre su superficie. La captación de proteínas glucadas por estos receptores puede activar la transcripción del factor **NF-κB** (capítulo 52), lo que genera diversas **citocinas** y **moléculas proinflamatorias**. De este modo, se cree que los AGE son un contribuidor importante a algunas de las alteraciones patológicas propias de la diabetes.

La glucación por unión no enzimática de **hemoglobina A** presente en los eritrocitos lleva a la formación de **HBA_{1c}**. Normalmente ocurre a un grado modesto, y está aumentada en pacientes con diabetes mellitus con control inadecuado de la glucemia, cuya concentración de glucosa en sangre está constantemente alta. La medición de la HBA_{1c} se ha convertido en una parte muy importante del **manejo de pacientes con diabetes mellitus** (capítulo 6).

LAS GLUCOPROTEÍNAS ESTÁN INVOLUCRADAS EN MUCHOS PROCESOS BIOLÓGICOS Y EN MUCHAS ENFERMEDADES

Las glucoproteínas tienen muchas funciones diferentes (cuadro 46-1); algunas ya se abordaron en este capítulo y otras se describen en otras partes de este libro (p. ej., moléculas de transporte, moléculas inmunológicas, y hormonas). También son importantes en la fecundación y la inflamación, y varias enfermedades se deben a defectos en la síntesis de glucoproteínas y el catabolismo de las mismas.

Las glucoproteínas son importantes en la fecundación

Para alcanzar la membrana plasmática de un ovocito, un espermatozoide tiene que cruzar la **zona pelúcida (ZP)**, una envoltura gruesa, transparente, no celular, que rodea el ovocito. La glucoproteína ZP3 es una glucoproteína *O*-enlazada que funciona como un receptor de espermatozoide. Una proteína sobre la superficie del espermatozoide interactúa con las cadenas de oligosacáridos de la ZP3. Mediante señalización transmembrana, esta interacción induce la **reacción acrosómica** en la cual se liberan enzimas como proteasas y hialuronidasa, y otro contenido del acrosoma del espermatozoide. La liberación de estas enzimas permite que el espermatozoide pase por la zona pelúcida y llegue a la membrana plasmática del ovocito. Otra glucoproteína, PH-30, es importante tanto en la unión de la membrana plasmática del espermatozoide a la del ovocito, y en la fusión subsiguiente de las dos membranas; estas interacciones permiten al espermatozoide entrar al ovocito y fecundarlo. Quizá sea posible **inhibir la fecundación** al crear fármacos que interfieran con las funciones normales de ZP3 y PH-30, que actuarían así como fármacos anticonceptivos.

Las selectinas desempeñan papeles clave en la inflamación y en el direccionamiento de linfocitos

Los **leucocitos** desempeñan funciones importantes en muchos fenómenos inflamatorios e inmunológicos. Los primeros pasos en muchos de estos fenómenos son interacciones entre leucocitos circulantes y **células endoteliales** antes del paso de los primeros hacia afuera de la circulación. Los leucocitos y las células endoteliales contienen lectinas de superficie celular, llamadas **selectinas**, que participan en la adhesión intercelular. Las selectinas son proteínas transmembrana de unión a Ca^{2+}, de cadena única; los aminoterminales contienen el dominio de lectina, que está involucrado en la unión a ligandos de carbohidrato específicos.

Las interacciones entre selectinas sobre la superficie celular de neutrófilos, y las glucoproteínas sobre la célula endotelial atrapan los neutrófilos temporalmente, de modo que ruedan sobre la superficie endotelial. Durante esto, los neutrófilos son activados, pasan por un cambio de forma, y ahora se adhieren firmemente al endotelio. Esta adhesión es el resultado de interacciones entre **integrinas** (capítulo 53) sobre los neutrófilos, y proteínas relacionadas con inmunoglobulina sobre las células endoteliales. Después de la adhesión, los neutrófilos insertan seudópodos en las uniones entre células endoteliales, pasan apretadamente a tra-

vés de estas uniones, cruzan la membrana basal y entonces están libres para migrar al espacio extravascular.

Las selectinas se unen a **oligosacáridos sialilados y fucosilados**. Los lípidos sulfatados también pueden ser ligandos. La síntesis de compuestos como anticuerpos monoclonales que bloquean las interacciones entre selectina y ligando puede ser útil desde el punto de vista terapéutico para inhibir respuestas inflamatorias. Las **células cancerosas** a menudo tienen ligandos de selectina sobre su superficie, lo cual puede estar implicado en la invasión y las metástasis de células cancerosas.

Las anormalidades en la síntesis de glucoproteínas subyacen ciertas enfermedades

En el cuadro 46-12 se listan varias enfermedades en las cuales las anormalidades de la síntesis de glucoproteínas son importantes. Como se mencionó, muchas **células cancerosas** muestran diferentes perfiles de cadenas de oligosacáridos sobre su superficie, algunas de las cuales pueden contribuir a metástasis.

En el cuadro 46-13 se resumen las principales características de los **trastornos congénitos de la glucosilación**.

La **deficiencia de adhesión de leucocitos II** es una enfermedad rara que probablemente se debe a mutaciones que afectan la actividad de un transportador de GDP-fucosa localizado en el aparato de Golgi. La falta de ligandos fucosilados para selectinas conduce a un notorio decremento del rodamiento de neutrófilos. Los sujetos sufren infecciones bacterianas recurrentes que ponen en peligro la vida, y retraso psicomotor y mental. La enfermedad parece responder a la fucosa por vía oral.

CUADRO 46-12 Algunas enfermedades que comprenden anormalidades de la biosíntesis de glucoproteínas

Enfermedad	Anormalidad
Cáncer	La ramificación aumentada de glucanos de superficie celular o la presentación de ligandos de selectina puede ser importante en las metástasis
Trastornos congénitos de la glucosilación[a]	Véase el cuadro 46-13
HEMPAS[b] (OMIM 224100)	Anormalidades de ciertas enzimas (p. ej., manosidasa II y otras) involucradas en la biosíntesis de *N*-glucanos, que afectan en particular la membrana de eritrocitos
Deficiencia de adherencia de leucocitos, tipo II (OMIM 266265)	Probablemente mutaciones que afectan un transportador de GDP-fucosa situado en el aparato de Golgi, lo que da por resultado fucosilación defectuosa
Hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) (OMIM 311770)	Defecto adquirido de la biosíntesis de las estructuras GPI[c] de factor acelerador de la descomposición (DAF) y CD59
Enfermedad de células I (OMIM 252500)	Deficiencia de GlcNAc fosfotransferasa, que da por resultado direccionamiento anormal de ciertas enzimas lisosomales

[a] El número de OMIM para el trastorno congénito de la glucosilación tipo Ia es 212065.
[b] Multinuclearidad eritroblástica hereditaria con resultados positivos en la prueba de lisis de suero acidificado (anemia diseritropoyética congénita tipo II). Ésta es una forma relativamente leve de anemia. Refleja al menos en parte la presencia en las membranas del eritrocito de diversas glucoproteínas con cadenas de *N*-glucano anormales, que contribuyen a la susceptibilidad a lisis.
[c] Glucosilfosfatidilinositol.

CUADRO 46-13 Principales características de los trastornos congénitos de la glucosilación

- Trastornos autosómicos recesivos
- Trastornos multisistémicos que probablemente no han sido reconocidos en el pasado
- Por lo general afectan el sistema nervioso, lo que da por resultado retraso psicomotor y otras características
- Los trastornos tipo I se deben a mutaciones en genes que codifican para enzimas (p. ej., fosfomanomutasa-2 (PMM-2), que causa CDG Ia) involucrada en la síntesis de dolicol-P-P- oligosacárido
- Los trastornos tipo II se deben a mutaciones en genes que codifican para enzimas (p. ej., GlcNAc transferasa-2, que causa CDG IIa) involucradas en el procesamiento de cadenas de *N*-glucano
- Se han reconocido al menos 15 trastornos separados
- El enfoque isoeléctrico de transferrina es una prueba bioquímica útil para ayudar en el diagnóstico de estas enfermedades; el truncamiento de las cadenas de oligosacárido de esta proteína altera su patrón de enfoque isoeléctrico
- La manosa por vía oral ha resultado beneficiosa en el tratamiento de CDG Ia

Abreviatura: CDG, trastorno congénito de la glucosilación.

La **hemoglobinuria paroxística nocturna** es una anemia leve adquirida que se caracteriza por la presencia de hemoglobina en la orina debido a hemólisis de eritrocitos, en particular durante el sueño, lo cual puede reflejar una disminución leve del pH plasmático durante el sueño, que aumenta la susceptibilidad a lisis por el sistema de complemento (capítulo 52). La enfermedad se debe a la adquisición en células hematopoyéticas de mutaciones somáticas en el gen que codifica para la enzima que enlaza la glucosamina al fosfatidilinositol en la estructura de GPI. Esto da pie a una deficiencia de proteínas que están ancladas a la membrana del eritrocito mediante enlace con GPI. Dos proteínas, el **factor acelerador de la descomposición** y **CD59** normalmente interactúan con componentes del sistema de complemento para evitar la hemólisis. Cuando son deficientes, el sistema de complemento actúa sobre la membrana del eritrocito para causar hemólisis.

Algunas de las **distrofias musculares congénitas (CMD)** son el resultado de defectos de la síntesis de glucanos en la proteína α-distroglucano. Esta proteína sobresale desde la membrana de superficie de células musculares, e interactúa con la laminina-2 (merosina) en la lámina basal. Si los glucanos del α-distroglucano no se forman correctamente (como resultado de mutaciones en genes que codifican para algunas glucosiltransferasas), esto da lugar a interacción defectuosa de α-DG con laminina.

La **artritis reumatoide** se asocia con una alteración de la glucosilación de moléculas de inmunoglobulina G (IgG) circulantes (capítulo 52), de modo que carecen de galactosa en sus regiones Fc, y terminan en GlcNAc. La **proteína de unión a manosa**, una lectina sintetizada por células hepáticas y secretada hacia la circulación, se une a manosa, *N*-acetilglucosamina y algunos otros azúcares. De este modo, puede unirse a moléculas de IgG agalactosil, que después activan el sistema de complemento, lo cual contribuye a inflamación crónica en las membranas sinoviales de articulaciones.

La **proteína de unión a manosa** también puede unirse a azúcares cuando están presentes sobre las superficies de bacterias, hongos y virus, lo cual prepara a estos agentes patógenos para

CUADRO 46-14 Principales características de algunas enfermedades[a] debidas a deficiencias de glucoproteína hidrolasas[b]

- Por lo general hay retraso mental u otras anormalidades neurológicas, y en algunos trastornos facciones toscas o visceromegalia (o ambas)
- Variaciones de la gravedad desde leve hasta rápidamente progresiva
- Herencia autosómica recesiva
- Pueden mostrar distribución étnica (p. ej., la aspartilglucosaminuria es común en Finlandia)
- En algunos trastornos la microscopia revela vacuolización de células
- Presencia de productos de degradación anormales (p. ej., oligosacáridos que se acumulan debido a la deficiencia de enzima) en la orina, detectable mediante TLC y caracterizarle por medio de GLC-MS
- El diagnóstico definitivo se efectúa mediante valoración de la enzima apropiada, a menudo usando leucocitos
- Posibilidad de diagnóstico prenatal mediante valoraciones de enzimas apropiadas
- En la actualidad no hay un tratamiento definitivo

[a] α-Manosidosis, β-manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria, y enfermedad de Schindler. [b] Números de OMIM: α-manosidosis, 248500; β-manosidosis, 248510; fucosidosis, 230000; sialidosis, 256550; aspartilglucosaminuria, 208400; enfermedad de Schindler, 609241.

opsonización, y para destrucción por el sistema de complemento. Éste es un ejemplo de **inmunidad innata**, que no involucra inmunoglobulinas o linfocitos T. La deficiencia de esta proteína en lactantes de corta edad como resultado de mutación los hace susceptibles a **infecciones recurrentes**.

La enfermedad de células de inclusión (células I) se produce por direccionamiento fallido de enzimas lisosomales

La manosa 6-fosfato sirve para dirigir enzimas hacia el lisosoma. La enfermedad de células I es una enfermedad poco común que se caracteriza por retraso psicomotor progresivo grave, y diversos signos físicos; la muerte a menudo ocurre durante la primera década de la vida. Las células de pacientes con enfermedad de célula I carecen de casi todas las enzimas lisosomales normales; de este modo, los lisosomas acumulan muchos tipos de moléculas no degradadas, con la formación de cuerpos de inclusión. El plasma de los pacientes contiene actividad muy alta de enzimas lisosomales, lo que sugiere que las enzimas se sintetizan pero no llegan a su destino intracelular apropiado y, en lugar de eso, son secretadas. Las células cultivadas de pacientes captan enzimas lisosomales agregadas de manera exógena, obtenidas de sujetos normales, lo cual indica que las células tienen un receptor normal en su superficie para la captación endocítica de enzimas lisosomales. Las enzimas lisosomales de individuos normales portan el marcador de reconocimiento de manosa 6-fosfato; las células de pacientes con enfermedad de célula I carecen de la *N*-acetilglucosamina fosfotransferasa localizada en el aparato de Golgi. Dos lectinas actúan como **proteínas receptoras de manosa 6-fosfato**. Ambas funcionan en la distribución intracelular de enzimas lisosomales hacia vesículas cubiertas con clatrina en el aparato de Golgi. Estas vesículas a continuación salen del aparato de Golgi y se fusionan con un compartimiento prelisosomal.

Las deficiencias genéticas de glucoproteína lisosomal hidrolasas causan enfermedades, como la α-manosidosis

El recambio de glucoproteínas comprende catabolismo de las cadenas de oligosacáridos catalizado por varias hidrolasas lisosomales, entre ellas α-neuraminidasa, β-galactosidasa, β-hexosaminidasa, α y β-manosidasas, α-*N*-acetilgalactosaminidasa, α-fucosidasa, endo-β-*N*-acetilglucosaminidasa, y aspartilglucosaminidasa. Los defectos genéticos en estas enzimas dan por resultado degradación anormal de glucoproteínas. La acumulación en tejidos de glucoproteínas parcialmente degradadas lleva a diversas enfermedades. Entre las mejor reconocidas de estas figuran la manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria, y enfermedad de Schindler, debidas, respectivamente, a deficiencias de α-manosidasa, α-fucosidasa, α-neuraminidasa, aspartilglucosaminidasa y α-*N*-acetilgalactosaminidasa. En el **cuadro 46-14** se listan algunas de las principales características de estas enfermedades.

LOS GLUCANOS ESTÁN INVOLUCRADOS EN LA UNIÓN DE VIRUS, BACTERIAS, Y ALGUNOS PARÁSITOS, A CÉLULAS DE HUMANO

Una característica de los glucanos que explica muchas de sus acciones biológicas, es que se unen de manera específica a proteínas y otros glucanos. Un reflejo de esto es su capacidad para unirse a algunos virus, bacterias y parásitos.

El **virus de la gripe A** se une a moléculas receptoras de glucoproteína de superficie celular que contienen ácido *N*-acetilneuramínico por medio de una proteína **hemaglutinina**. El virus también tiene una **neuraminidasa** que desempeña una función clave en permitir la elución de progenie recién sintetizada desde células infectadas. Si este proceso es inhibido, la diseminación de los virus disminuye notoriamente. Ahora se dispone de inhibidores de esta enzima (p. ej., zanamivir, oseltamivir) para uso en el tratamiento de pacientes que presentan gripe. Los virus de la gripe se clasifican de acuerdo con el tipo de hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N) que poseen. Hay al menos 16 tipos de hemaglutinina, y nueve tipos de neuraminidasa. De este modo, el **virus de la gripe aviar** se clasifica como **H5N1**.

El **virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1)**, la causa del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (AIDS), se fija a células por medio de una de sus glucoproteínas de superficie (gp 120), y usa otra glucoproteína de superficie (gp 41) para fusionarse con la membrana de la célula huésped. Durante infección por HIV-1 se forman **anticuerpos** contra gp 120, y ha habido interés en el uso de la proteína como una vacuna. Un problema importante con este método es que la estructura de la gp 120 puede cambiar con relativa rapidez debido a mutaciones, lo que permite que el virus escape de la actividad neutralizante de anticuerpos dirigidos contra ella.

Helicobacter pylori es la principal causa de **úlceras pépticas**. Se une a por lo menos dos glucanos diferentes que se encuentran sobre la superficie de células epiteliales en el estómago, lo que permite que establezca un sitio de unión estable al revestimiento

del estómago. De modo similar, muchas bacterias que causan **diarrea** se fijan a células superficiales de la mucosa intestinal por medio de glucanos presentes en glucoproteínas o glucolípidos. La unión del parásito del paludismo, *Plasmodium falciparum,* a células de humano está mediada por una GPI presente sobre la superficie del parásito.

RESUMEN

- Las glucoproteínas son proteínas ampliamente distribuidas, con funciones diversas, que contienen una o más cadenas de carbohidrato enlazadas de modo covalente.
- El contenido de carbohidrato de una glucoproteína varía de 1% a más de 85% de su peso, y puede ser simple o muy complejo en la estructura. Ocho azúcares se encuentran principalmente en las cadenas de azúcar de glucoproteínas de ser humano: xilosa, fucosa, galactosa, glucosa, manosa, *N*-acetilgalactosamina, *N*-acetilglucosamina y ácido *N*-acetilneuramínico.
- Al menos algunas de las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas codifican información biológica; también son importantes en la modulación de la solubilidad y la viscosidad de glucoproteínas, en la protección de estas últimas contra proteólisis, y en sus acciones biológicas.
- Las glucosidasas hidrolizan enlaces específicos en oligosacáridos, y se usan para explorar las estructuras y funciones de glucoproteínas.
- Las lectinas son proteínas de unión a carbohidrato involucradas en la adhesión celular y en muchos otros procesos.
- Las principales clases de glucoproteínas son *O*-enlazadas (que comprenden serina o treonina), *N*-enlazadas (que comprenden el grupo amida de la asparagina) y GPI-enlazadas.
- Las mucinas son una clase de glucoproteínas *O*-enlazadas que se encuentran distribuidas sobre la superficie de células epiteliales de los tractos respiratorio, gastrointestinal y reproductor.
- El retículo endoplasmático y el aparato de Golgi desempeñan un papel importante en las reacciones de glucosilación involucradas en la biosíntesis de glucoproteínas.
- Las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas *O*-enlazadas se sintetizan mediante la adición por pasos de azúcares donados por nucleótidos de azúcar en reacciones catalizadas por glucoproteína glucosiltransferasas.
- La síntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas comprende un dolicol-P-P-oligosacárido específico, y diversas glucotransferasas y glucosidasas. Dependiendo de las enzimas y las proteínas precursoras en un tejido, puede sintetizar tipos de oligosacáridos *N*-enlazados complejos, híbridos o altos en manosa.
- Las glucoproteínas están implicadas en muchos procesos biológicos, entre ellos fecundación e inflamación.
- Hay varias enfermedades que comprenden anormalidades de la síntesis de glucoproteínas y la degradación de las mismas. Las glucoproteínas también están involucradas en muchas otras enfermedades, entre ellas gripe, sida, artritis reumatoide, fibrosis quística, y úlcera péptica.

REFERENCIAS

Chandrasekeran A, Srinivasan A, Raman R, *et al*: Glycan topology determines human adaptation of avian H5N1 virus hemagglutinin. Nat Biotechnology 2008;26:107.

Freeze HH: Congenital disorders of glycosylation: CDG-I, CDG-II, and beyond. Curr Mol Med 2007;7:389.

Haltiwanger RS, Lowe JB: Role of glycosylation in development. Annu Rev Biochem 2004;73:491-537.

Hart GW, Slawson C, Ramirez-Correa G, Lagerlof O. Cross-talk between *O*-Glc *N*-acylation and phosphorylation: roles in signaling, transcription and chronic disease. Annu Rev Biochem 2011;80:825-858.

Kiessling LL, Splain RA: Chemical approaches to glycobiology. Annu Rev Biochem. 2010;79:619.

Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. Annu Rev Biochem 1985;54:631.

Lowe JB, Marth JB: A genetic approach to mammalian glycan function. Annu Rev Biochem 2003;72:643-691.

Ohtsubo K, Marth JD: Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. Cell 2006;126:855.

Pilobelli KT, Mahal LK: Deciphering the glycocode: the complexity and analytical challenge of glycomics. Curr Opin Chem Biol 2007;11:300.

Sansom C, Markman O: *Glycobiology.* Scion Publishing, 2007.

Spiro RG: Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds. Glycobiology 2002;12:43R-53R.

Taylor ME, Drickamer K: *Introduction to Glycobiology.* 3rd edition, Oxford University Press, 2011.

Udenfriend S, Kodukula K: How glycosylphosphatidyl anchored membrane proteins are made. Annu Rev Biochem 1995;64: 563-591.

Varki A, Cummings RD, Esko JD, *et al*: *Essentials of Glycobiology.* 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008.

Werz DB, Seeberger PH: Carbohydrates are the next frontier in pharmaceutical research. Chemistry 2005;11:3194.

CAPÍTULO 47

Metabolismo de los xenobióticos

David A. Bender, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Comentar cómo los fármacos y otros xenobióticos se metabolizan en el cuerpo.
- Describir las dos fases generales del metabolismo de xenobióticos; la primera comprende principalmente reacciones de hidroxilación catalizadas por especies de citocromo P450, y la segunda, reacciones de conjugación catalizadas por diversas enzimas.
- Describir la importancia metabólica del glutatión.
- Apreciar que los xenobióticos pueden causar efectos farmacológicos, tóxicos, inmunológicos, y carcinogénicos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El humano está expuesto a una amplia variedad de sustancias químicas extrañas **(xenobióticos)**, tanto compuestos naturales en alimentos vegetales, como compuestos sintéticos en medicinas, aditivos de alimentos, y contaminantes ambientales. El conocimiento del metabolismo de los xenobióticos es esencial para un entendimiento de la farmacología y la terapéutica, la toxicología, y el manejo de enfermedades. Todas estas áreas comprenden la administración de xenobióticos, o la exposición a los mismos. Muchos de los xenobióticos en alimentos vegetales tienen efectos en potencia beneficiosos (p. ej., al actuar como antioxidantes, capítulo 45), y el conocimiento de su metabolismo permitirá la extrapolación desde la medición *in vitro* de la actividad antioxidante, a la acción protectora *in vivo*.

El entendimiento de los mecanismos involucrados en el metabolismo de xenobióticos permitirá el desarrollo de microorganismos y plantas transgénicos que contienen genes que codifican para enzimas para el metabolismo de compuestos específicos que pueden usarse para convertir contaminantes en potencia peligrosos en compuestos inocuos. De modo similar, los organismos transgénicos pueden usarse para la biosíntesis de fármacos y otras sustancias químicas.

EL HUMANO ENCUENTRA MUCHOS XENOBIÓTICOS QUE DEBEN METABOLIZARSE ANTES DE SER EXCRETADOS

Un **xenobiótico** (del griego *xenos* "extraño") es un compuesto que es extraño al organismo. Las principales clases de xenobióticos de importancia médica son **fármacos**, **carcinógenos químicos**, compuestos naturales en alimentos vegetales y diversos compuestos que han entrado al ambiente de las personas mediante una vía u otra, como los bifenilos policlorados (PCB), insecticidas y otros plaguicidas. Hay más de 200 000 sustancias químicas ambientales fabricadas. Casi todos estos compuestos quedan sujetos a metabolismo, principalmente en el hígado. Si bien en general se considera que el metabolismo de los xenobióticos es un proceso de destoxificación, a veces los metabolitos de compuestos que son por sí mismos inertes o inocuos son biológicamente activos. Esto puede ser deseable, como en la activación de un profármaco al compuesto activo, o indeseable, como en la formación de un carcinógeno o mutágeno a partir de un precursor inerte.

El metabolismo de xenobióticos en general se considera en dos fases. En la **fase 1**, la principal reacción involucrada es la **hidroxilación**, catalizada principalmente por miembros de una clase de enzimas denominadas **monooxigenasas** o **citocromos P450**. La hidroxilación puede terminar la acción de un fármaco, aunque esto no siempre es así. Además de hidroxilación, estas enzimas catalizan una amplia gama de reacciones, entre ellas las que comprenden desaminación, deshalogenación, desulfuración, epoxidación, peroxigenación y reducción. En la fase 1 también ocurren reacciones que comprenden hidrólisis (p. ej., catalizadas por esterasas) y ciertas otras reacciones no catalizadas por P450.

El metabolismo de fase 1 hace a los compuestos más reactivos, al introducir grupos que pueden conjugarse con ácido glucurónico, sulfato, acetato, glutatión o aminoácidos en el metabolismo fase 2. Esto produce **compuestos polares** que son hidrosolubles y, por ende, pueden excretarse con facilidad en la orina o la bilis. Los xenobióticos muy hidrofóbicos persistirían en el tejido adiposo casi por tiempo indefinido si no fueran convertidos en formas más polares.

En algunos casos, las reacciones metabólicas fase 1 convierten xenobióticos desde compuestos **inactivos** hacia compuestos **biológicamente activos**. En estas circunstancias, los xenobióticos originales se denominan **profármacos** o **procarcinógenos**. A veces, reacciones fase 1 adicionales (p. ej., reacciones de hidroxilación adicionales) convierten estos compuestos activos en formas menos activas, o inactivas, antes de conjugación. En aún otros casos, son las reacciones de conjugación mismas las que convierten los productos activos de las reacciones fase 1 en compuestos menos activos o inactivos, que se excretan. En muy pocos casos, la conjugación puede aumentar la actividad biológica de un xenobiótico.

LAS ISOFORMAS DE CITOCROMO P450 HIDROXILAN MUCHÍSIMOS XENOBIÓTICOS EN LA FASE 1 DE SU METABOLISMO

La principal reacción involucrada en el metabolismo fase 1 es la **hidroxilación**, catalizada por una familia de enzimas conocidas como **monooxigenasas** o **citocromos P450**. Hay al menos 57 genes que codifican para citocromo P450 en el genoma del humano.

El citocromo P450 es una enzima hem. Se denomina así porque originalmente se descubrió cuando se notó que preparaciones de microsomas (fragmentos del retículo endoplasmático) que habían sido químicamente reducidas y después expuestas a monóxido de carbono, mostraron un máximo de absorción a 450 nm. Un 50% de los fármacos comunes que los humanos ingieren son metabolizados mediante isoformas de citocromo P450. También actúan sobre hormonas esteroides, carcinógenos y contaminantes. Los principales citocromos P450 en el metabolismo de fármacos son miembros de las familias CYP1, CYP2 y CYP3 (véase más adelante). Además de su papel en el metabolismo de xenobióticos, los citocromos P450 son importantes en el metabolismo de varios compuestos fisiológicos (por ejemplo, la síntesis de hormonas esteroides [capítulo 26]) y la conversión de vitamina D en su metabolito activo, calcitriol [capítulo 44]).

La reacción general catalizada por un citocromo P450 es:

$$RH + O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow R{-}OH + H_2O + NADP$$

La función del NADPH es reducir el citocromo P450; el citocromo reducido a continuación reduce el oxígeno a agua y el grupo hidroxilo que es introducido en el sustrato. El mecanismo de la reacciones complejo (figura 12-6). Al usar $^{18}O_2$, se ha mostrado que un átomo de oxígeno forma el grupo hidroxilo de R−OH y el otro forma agua; este destino doble del oxígeno explica la denominación anterior de las monooxigenasas como **"oxidasas de función mixta"**.

Las isoformas del citocromo P450 constituyen una superfamilia de enzimas que contienen hem

Debido al **gran número de isoformas** de citocromo P450 que se han descubierto (alrededor de 150) en una amplia gama de organismos, incluso bacterias), es importante tener una **nomenclatura sistemática** para las enzimas y sus genes. Se basa en la homología de secuencia de aminoácidos de las enzimas. El símbolo raíz abreviado CYP denota un citocromo P450. Esto va seguido por un número arábigo que designa la **familia**; los citocromos P450 se incluyen en la misma familia si muestran 40% o más de identidad de secuencia de aminoácidos. El número arábigo va seguido por una letra mayúscula que indica la **subfamilia**; los P450 están en la misma subfamilia si muestran más de 55% de identidad de secuencia. A continuación se asignan números arábigos a los P450 **individuales** en su subfamilia. De este modo, CYP1A1 denota un citocromo P450 que es un miembro de la familia 1 y la subfamilia A, y es el primer miembro individual de esa subfamilia. La nomenclatura para los **genes** que codifican para citocromos P450 es la misma, salvo porque se usan letras cursivas; de este modo, el gen que codifica para CYP1A1 es *CYP1A1*. En el cuadro 47-1 se muestran las familias de citocromo P450 en tejidos humanos y sus principales funciones.

En mamíferos, los citocromos P450 están presentes en mayor cantidad en **células hepáticas** y enterocitos, pero es probable que estén presentes en todos los tejidos. En el hígado y en casi todos

CUADRO 47-1 Las familias de citocromo P450 en tejidos de humano

Familia	Función	Miembros
CYP1	Metabolismo de fármacos y esteroides (en especial estrógeno)	3 subfamilias
CYP2	Metabolismo de fármacos y esteroides	13 subfamilias
CYP3	Metabolismo de fármacos y esteroides (incluso testosterona)	1 subfamilia
CYP4	Metabolismo del ácido araquidónico y de ácidos grasos	6 subfamilias
CYP5	Tromboxano A_2 sintasa	1 subfamilia
CYP7	Biosíntesis de ácidos biliares y esteroide 7α hidroxilasa	2 subfamilias
CYP8	Diversas, incluso síntesis de prostaciclina sintasa y de ácidos biliares	2 subfamilias
CYP11	Biosíntesis de esteroides	2 subfamilias
CYP17	Biosíntesis de esteroides, 17α hidroxilasa	1 subfamilia
CYP19	Biosíntesis de esteroides, aromatasa	1 subfamilia
CYP20	Función desconocida	1 subfamilia
CYP21	Biosíntesis de esteroides	2 subfamilias
CYP24	Catabolismo de la vitamina D	1 subfamilia
CYP26	Ácido retinoico hidroxilasa	3 subfamilias
CYP27	Diversas, incluso síntesis de ácidos biliares y calcidiol 1α hidroxilasa.	3 subfamilias
CYP39	7-α hidroxilación de 24-hidroxicolesterol	1 subfamilia
CYP46	Colesterol 24-hidroxilasa	1 subfamilia
CYP51	Biosíntesis de colesterol	1 subfamilia

los otros tejidos, están presentes principalmente en las **membranas del retículo endoplasmático liso**, que constituye parte de la **fracción microsomal** cuando el tejido queda sujeto a fraccionamiento subcelular. En microsomas hepáticos, los citocromos P450 pueden comprender hasta 20% de la proteína total. Los P450 se encuentran en casi todos los tejidos, aunque a menudo en cantidades bajas en comparación con el hígado. En la **glándula suprarrenal**, se encuentran en **mitocondrias**, así como en el retículo endoplasmático; las diversas hidroxilasas presentes en la glándula están involucradas en la biosíntesis de colesterol y de hormona esteroide. El sistema de citocromo P450 mitocondrial difiere del sistema microsomal en que usa una flavoproteína enlazada a NADPH, la **adrenodoxina reductasa**, y una proteína hierro-azufre no hem, la **adrenodoxina**. Además, las isoformas de P450 involucradas en la biosíntesis de esteroides en general están mucho más restringidas en su especificidad de sustrato.

No sólo hay una amplia variedad de citocromos P450, sino que también tienen especificidades de sustrato que se superponen, de modo que un rango muy amplio de xenobióticos puede metabolizarse por uno u otro de los citocromos P450.

El **NADPH**, no el NADH, está involucrado en el mecanismo de reacción del citocromo P450, en una reacción catalizada por **NADPH-citocromo P450 reductasa**. Los electrones son transferidos del NADPH a la NADPH-citocromo P450 reductasa y después al citocromo P450. Esto lleva a la **activación reductiva de oxígeno molecular** y un átomo de oxígeno después es insertado en el sustrato. El **citocromo b_5**, otra hemoproteína que se encuentra en las membranas del retículo endoplasmático liso (capítulo 12), puede estar involucrado como un donante de electrón en algunos casos.

Casi todas las isoformas de citocromo P450 son **inducibles**, por ejemplo, la administración de fenobarbital u otros fármacos causa hipertrofia del retículo endoplasmático liso, y un incremento de 3 a 4 veces de la cantidad de citocromo P450 en el transcurso de 4 a 5 días. Esto casi siempre comprende transcripción aumentada de mRNA. No obstante, en algunos casos, la inducción comprende estabilización de mRNA o la proteína enzima misma, o un incremento de la traducción de mRNA.

La inducción de citocromo P450 subyace **interacciones farmacológicas**, cuando los efectos de un fármaco son alterados por la administración previa, concurrente o posterior de otro. Por ejemplo, el anticoagulante **warfarina** es metabolizado por el **CYP2C9**, que es inducido por el fenobarbital. La inducción de CYP2C0 por el fenobarbital aumentará el metabolismo de warfarina, de modo que reducirá su eficacia y se debe aumentar la dosis. Otro ejemplo involucra al **CYP2E1**, que es inducido por el consumo de **etanol**; este P450 metaboliza algunos solventes ampliamente usados y compuestos que se encuentran en el humo de tabaco, muchos de los cuales son **procarcinógenos** establecidos. Si la actividad de CYP2E1 es inducida por etanol, esto puede aumentar el riesgo de carcinogenicidad.

Compuestos naturales en alimentos también pueden afectar el citocromo P450. La toronja contiene diversas furanocumarinas, que inhiben el citocromo P450 y, así, afectan el metabolismo de muchos fármacos. Algunos fármacos son activados por el citocromo P450, de modo que la toronja reducirá su actividad; otros son desactivados por el citocromo P450, así que la toronja aumenta su actividad. Los fármacos que son afectados comprenden estatinas, omeprazol, antihistamínicos y antidepresivos benzodiazepina.

El **polimorfismo** de citocromos P450 puede explicar gran parte de las variaciones de las respuestas a fármacos que se notan entre muchos pacientes (las variantes con actividad catalítica baja llevarán a metabolismo más lento del sustrato y, por ende, a acción prolongada del fármaco, y acumulación de este último en el organismo). Un polimorfismo interesante es el del **CYP2A6**, que está involucrado en el metabolismo de la **nicotina** a conitina. Se han identificado tres alelos de *CYP2A6*: un tipo natural, y dos alelos nulos o inactivos. Se ha reportado que los individuos con los alelos nulos, que tienen metabolismo alterado de la nicotina, al parecer están protegidos contra hacerse fumadores dependientes del tabaco. Estos individuos fuman menos, probablemente porque sus concentraciones de nicotina en la sangre y en el cerebro permanecen altas más tiempo que las de individuos que tienen el alelo natural. Se ha especulado que inhibir el CYP2A6 tal vez proporcione una nueva manera de ayudar al cese del tabaquismo.

En el cuadro 47-2 se resumen algunas características principales de los citocromos P450.

CUADRO 47-2 Algunas propiedades de los citocromos P450 de humano

• Están involucrados en la fase I del metabolismo de un gran número de xenobióticos, incluso quizá 50% de los fármacos usados en clínica; pueden aumentar, disminuir o tener efecto nulo sobre las actividades de diversos fármacos
• Están involucrados en el metabolismo de muchos compuestos endógenos (p. ej., esteroides)
• Todos son hemoproteínas
• A menudo muestran especificidad de sustrato amplia; de este modo actúan sobre muchos compuestos; en consecuencia, diferentes P450 pueden catalizar la formación del mismo producto
• Son catalíticos en extremo versátiles; quizá catalizan alrededor de 60 tipos de reacciones. Sin embargo, básicamente catalizan reacciones que involucran la introducción de un átomo de oxígeno en el sustrato, y uno hacia agua
• Sus productos hidroxilados son más hidrosolubles que sus sustratos en general lipofílicos, lo que facilita la excreción
• El hígado contiene cantidades más altas, pero se encuentran en casi todos los tejidos si no es que en todos, incluso el intestino delgado, el cerebro y los pulmones
• Ubicados en el retículo endoplasmático liso o en mitocondrias (hormonas esteroidogénicas)
• En algunos casos, sus productos son mutagénicos o carcinogénicos
• Muchos tienen una masa molecular de alrededor de 55 kDa
• Muchos son inducibles, lo que da por resultado una causa de interacciones farmacológicas
• Muchos son inhibidos por diversos fármacos o sus productos metabólicos, lo que proporciona otra causa de interacciones farmacológicas
• Algunos muestran polimorfismos genéticos, que pueden dar por resultado metabolismo atípico de fármacos
• Sus actividades pueden estar alteradas en tejidos enfermos (p. ej., cirrosis, lo cual afecta el metabolismo de fármacos
• En el futuro, la genotipificación del perfil de P450 de pacientes (p. ej., para detectar polimorfismos) quizá permita la individualización de la farmacoterapia

LAS REACCIONES DE CONJUGACIÓN PREPARAN A LOS XENOBIÓTICOS PARA EXCRECIÓN EN LA FASE 2 DE SU METABOLISMO

En reacciones fase 1, los xenobióticos por lo general son convertidos en derivados hidroxilados, más polares. En las reacciones fase 2, estos derivados son conjugados con moléculas como ácido glucurónico, sulfato, o glutatión. Esto las hace aún más hidrosolubles, y finalmente son excretadas en la orina o la bilis.

Aquí se describen cinco tipos de reacciones fase 2

Glucuronidación

La glucuronidación de la bilirrubina se comenta en el capítulo 31; los xenobióticos son glucuronidados de la misma manera, usando UDP-ácido glucurónico, catalizado por diversas glucuronosiltransferasas, presentes tanto en el retículo endoplasmático como en el citosol. Moléculas como el 2-acetilaminofluoreno (un carcinógeno), anilina, ácido benzoico, meprobamato (un tranquilizante), fenol y muchos esteroides, son excretadas como glucurónidos. El glucurónido puede estar fijo al oxígeno, nitrógeno o grupos de azufre de los sustratos. La glucuronidación probablemente es la reacción de conjugación más frecuente.

Sulfación

Algunos alcoholes, arilaminas y fenoles son sulfatados. El **donante de sulfato** en estas reacciones y en otras reacciones biológicas y de sulfación (p. ej., sulfación de esteroides, glicosaminoglicanos, glucolípidos, y glucoproteínas) es la **adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato (PAPS)** (capítulo 24) (el llamado "sulfato activo").

Conjugación con glutatión

Glutatión *S*-transferasas

El tripéptido glutatión (γ-glutamilcisteinilglicina) es importante en el metabolismo fase II de compuestos electrófilos, al formar *S*-conjugados de glutatión que se excretan en la orina y la bilis. La reacción catalizada por las glutatión *S*-transferasas es:

$$R + GSH \rightarrow R{-}S{-}G$$

donde R es un compuesto electrófilo y GSH es glutatión.

Hay cuatro clases de glutatión *S*-transferasa citosólica y dos clases de enzima unida a membrana microsomal, así como una clase κ distinta desde el punto de vista estructural que se encuentra en mitocondrias y peroxisomas. Las glutatión *S*-transferasas son homodímeros o heterodímeros de al menos siete tipos diferentes de subunidad y distintas subunidades son inducidas por diferentes xenobióticos.

Dado que las glutatión *S*-transferasas también se unen a diversos ligandos que no son sustratos, incluso bilirrubina, hormonas esteroides y algunos carcinógenos y sus metabolitos, a veces se conocen como **ligandina**. La glutatión *S*-transferasa se une a la bilirrubina en un sitio separado del sitio catalítico, la transporta del torrente sanguíneo al hígado, y después al retículo endoplasmático para conjugación con ácido glucurónico, y excreción en la bilis (capítulo 31). La unión de carcinógenos los secuestra, de modo que evita sus acciones sobre el DNA.

El hígado tiene una actividad muy alta de glutatión *S*-transferasa; *in vitro*, todo el fondo común de glutatión puede agotarse en cuestión de minutos en el momento de la exposición a sustratos xenobióticos. La actividad de la glutatión *S*-transferasa está regulada en dirección ascendente en muchos tumores, lo que conduce a resistencia a la quimioterapia.

Los conjugados de glutatión pueden transportarse hacia afuera del hígado, donde son sustratos para γ-glutamiltranspeptidasa y dipeptidasas extracelulares. Los cisteína *S*-conjugados resultantes son captados por otros tejidos (en especial el riñón) y *N*-acetilados para dar ácidos mercaptúricos (*N*-acetil cisteína *S*-conjugados) que se excretan en la orina. Algunos glutatión *S*-conjugados hepáticos entran a los canalículos biliares, donde son desintegrados a cisteína *S*-conjugados que a continuación son captados hacia el hígado para *N*-acetilación, y reexcretados en la bilis.

Además de su papel en el metabolismo fase 2, el glutatión tiene varios otros papeles en el metabolismo:

1. Proporciona el reductor para la reducción de **peróxido de hidrógeno** en potencia tóxico a agua en la reacción catalizada por la glutatión peroxidasa.
2. Es un importante **reductor y antioxidante intracelular**, y ayuda a mantener grupos -SH esenciales de enzimas en su estado reducido. Su participación en la anemia hemolítica causada por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa se comenta en los capítulos 20 y 53.
3. Un ciclo metabólico que comprende GSH como transportador ha quedado implicado en el **transporte de algunos aminoácidos** a través de membranas en los riñones. A continuación se muestra la primera reacción del ciclo.

$$\underset{\text{amino}}{\text{Aminoácido}} + GSH \rightarrow \underset{\text{cisteinilglicina}}{\text{ácido γ-glutamil}} + \text{cisteinilglicina}$$

Esta reacción transfiere aminoácidos a través de la membrana plasmática; el aminoácido después es hidrolizado desde su complejo con glutamato, y el GSH es resintetizado a partir de cisteinilglicina. La enzima que cataliza la reacción anterior es la **γ-glutamiltransferasa (GGT)**. Está presente en la membrana plasmática de las células de los túbulos renales, en las células de los conductillos biliares y en el retículo endoplasmático de hepatocitos. La enzima tiene cierto valor diagnóstico porque se libera hacia el torrente sanguíneo desde células hepáticas en diversas enfermedades hepatobiliares (capítulo 48).

Otras reacciones

Las dos reacciones más importantes que no son conjugación son acetilación y metilación.

Acetilación. La acetilación es representada por

$$X + \text{acetil-CoA} \rightarrow \text{acetil-}X + CoA$$

Donde X representa un xenobiótico. Al igual que para otras reacciones de acetilación, la **acetil-CoA** es el donante de acetilo. Estas reacciones son catalizadas por **acetiltransferasas** presentes en el citosol de diversos tejidos, en particular el hígado. El fármaco

isoniazida, usado en el tratamiento de tuberculosis, está sujeto a acetilación. Hay polimorfismo de acetiltransferasas, lo que da por resultado individuos que son clasificados como **acetiladores lentos o rápidos**. Los acetiladores lentos están más sujetos a los efectos tóxicos de la isoniazida porque el fármaco persiste más tiempo en estas personas.

Metilación. Algunos xenobióticos están sujetos a metilación por metiltransferasas, que emplean *S*-adenosilmetionina (figura 29-18) como el donante de metilo.

EDAD, SEXO Y OTROS FACTORES AFECTAN LAS ACTIVIDADES DE ENZIMAS METABOLIZADORAS DE XENOBIÓTICOS

Diversos factores pueden afectar las actividades de las enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos. Las actividades de estas enzimas pueden diferir considerablemente entre las **especies**. De este modo, por ejemplo, la posible **toxicidad** o **carcinogenicidad** de un xenobiótico no puede extrapolarse libremente desde un animal experimental a humanos o a otra especie de animales. Hay diferencias importantes de las actividades de enzimas entre los individuos, muchas de las cuales parecen deberse a **factores genéticos**. Las actividades de algunas de estas enzimas varían de acuerdo con la **edad** y el **sexo**.

La ingestión de algunos xenobióticos puede causar **inducción enzimática**. De este modo, es importante saber si un individuo ha estado expuesto o no a estos agentes inductores en la evaluación de respuestas bioquímicas a xenobióticos. Los metabolitos de algunos xenobióticos pueden **inhibir** o **estimular** las actividades de enzimas metabolizadoras de xenobióticos. De nuevo, esto puede afectar las dosis de ciertos fármacos que se administran a pacientes. Diversas **enfermedades** (p. ej., cirrosis hepática) pueden afectar las actividades de enzimas metabolizadoras de fármacos, lo que a veces hace necesario ajustar las dosificaciones de diversos fármacos para pacientes que tienen estos trastornos.

LAS RESPUESTAS A XENOBIÓTICOS INCLUYEN EFECTOS FARMACOLÓGICOS, TÓXICOS, INMUNOLÓGICOS Y CARCINOGÉNICOS

Hay muy pocos xenobióticos, incluso fármacos, que no generen algunos efectos tóxicos si la dosis es suficientemente grande. Los **efectos tóxicos de los xenobióticos** cubren un amplio espectro, pero los principales efectos pueden considerarse bajo tres encabezados generales (**figura 47-1**).

1. La unión covalente de metabolitos de xenobióticos a macromoléculas, incluso **DNA**, **RNA** y **proteína**, puede llevar a lesión celular **(citotoxicidad)**, que puede ser suficientemente grave como para dar por resultado muerte celular. Por ejemplo, en respuesta a daño del DNA, se activan los **mecanismos de reparación de DNA** de la célula. Parte de esta respuesta comprende la transferencia de múltiples unidades de ADP-ribosa sobre proteínas de unión a DNA, catalizada por poli(ADP-ribosa polimerasa). La fuente de ADP-ribosa es el NAD, y en respuesta a daño grave de DNA hay considerable disminución de NAD. Esto, a su vez, da pie a alteración grave de la formación de ATP y muerte celular.
2. El metabolito reactivo de un xenobiótico puede unirse a una proteína, actuar como un hapteno, y alterar su antigenicidad. No estimulará por sí mismo la producción de anticuerpos, pero lo hace cuando está unido a una proteína. Los anticuerpos resultantes reaccionan no sólo con la proteína modificada, sino también con la no modificada, de modo que en potencia imitan **enfermedad autoinmunitaria**.
3. Se cree que las reacciones de especies activadas de carcinógenos químicos con **DNA** son de gran importancia en la **carcinogénesis química**. Algunas sustancias químicas (p. ej., benzo[α]pireno) requieren activación por citocromo P450 en el retículo endoplasmático para hacerse carcinogénicas (de este modo, se llaman **carcinógenos indirectos**). Así, las

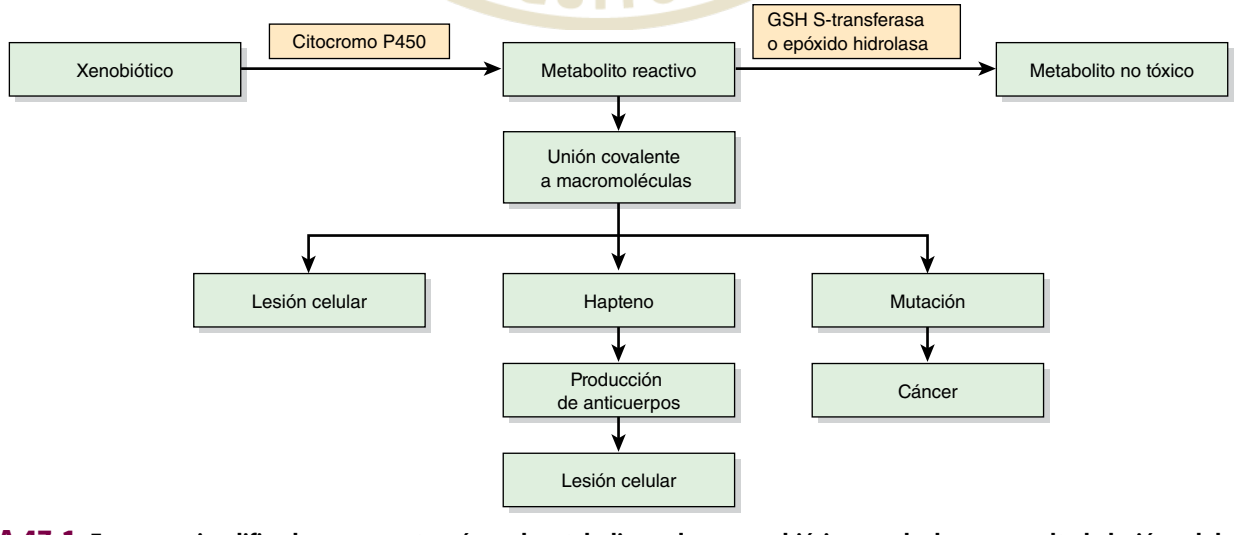


FIGURA 47-1 **Esquema simplificado que muestra cómo el metabolismo de un xenobiótico puede dar por resultado lesión celular, daño inmunológico o cáncer.** En este caso, la conversión del xenobiótico en un metabolito reactivo es catalizada por un citocromo P450, y la conversión del metabolito reactivo (p. ej., un epóxido) en un metabolito no tóxico es catalizada sea por una GSH S-transferasa o por la epóxido hidrolasa.

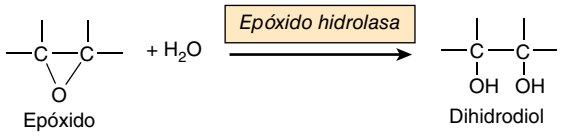


FIGURA 47-2 **La reacción de la epóxido hidrolasa.**

actividades de las enzimas metabolizadoras de xenobióticos presentes en el retículo endoplasmático ayudan a determinar si esos compuestos se hacen carcinogénicos o son "destoxificados".

La enzima **epóxido hidrolasa** despierta interés porque puede ejercer un efecto protector contra algunos carcinógenos. Los productos de la acción del citocromo P450 sobre algunos sustratos procarcinógenos son **epóxidos**. Los epóxidos son altamente reactivos y mutagénicos o carcinogénicos. La epóxido hidrolasa está presente en las membranas del retículo endoplasmático como citocromo P450. Actúa sobre estos compuestos, y los convierte en dihidrodioles mucho menos reactivos. En la **figura 47-2** se muestra la reacción catalizada por la epóxido hidrolasa.

RESUMEN

- Los xenobióticos son compuestos químicos extraños al organismo, incluso fármacos, aditivos de alimentos, y contaminantes ambientales, así como compuestos naturales en alimentos vegetales.
- Los xenobióticos son metabolizados en dos fases. La principal reacción de la fase 1 es hidroxilación catalizada por diversas monooxigenasas, conocidas como los citocromos P450. En la fase 2, las especies hidroxiladas son conjugadas con diversos compuestos hidrofílicos, como ácido glucurónico, sulfato o glutatión. La operación combinada de estas dos fases convierte compuestos lipofílicos en compuestos hidrosolubles que pueden excretarse en la orina o la bilis.
- Los citocromos P450 catalizan reacciones que introducen un átomo de oxígeno derivado de oxígeno molecular en el sustrato, lo que da un producto hidroxilado, y el otro hacia agua. El NADPH y la NADPH citocromo P450 reductasa están involucrados en el mecanismo de la reacción.
- Los citocromos P450 son hemoproteínas y por lo general tienen una especificidad de sustrato amplia; actúan sobre muchos sustratos exógenos y endógenos. En el tejido de humanos se encuentran al menos 57 genes que codifican para citocromo P450.
- Los citocromos P450 en general están situados en el retículo endoplasmático de células, especialmente en el hígado.
- Muchos citocromos P450 son inducibles. Esto tiene implicaciones importantes para interacciones entre fármacos.
- También hay citocromos P450 mitocondriales, los cuales están involucrados en la biosíntesis de colesterol y esteroide. Usan una proteína azufre que contiene hierro no hem, la adrenodoxina, que no es requerida por isoformas microsomales.
- Las reacciones de conjugación fase 2 son catalizadas por enzimas, como las glucuroniltransferasas, sulfotransferasas, y glutatión *S*-transferasas, usando UDP-ácido glucurónico, PAPS (sulfato activo) y glutatión, respectivamente, como donantes.
- El glutatión no sólo desempeña una función clave en las reacciones fase 2, sino que también es un agente reductor intracelular.
- Los xenobióticos pueden producir diversos efectos biológicos, entre ellos respuestas farmacológicas, toxicidad, reacciones inmunológicas, y cáncer.

REFERENCIAS

Caskey CT: Using genetic diagnosis to determine individual therapeutic utility. Annu Rev Med 2010;61:1.

Cupp MJ, Tracy TS: Cytochrome P450: new nomenclature and clinical implications. Am Fam Physician 1998;57(1):107-116.

Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. http://www.imm.ki.se/CYPalleles/

Ingelman-Sundberg M: Pharmacogenomic biomarkers for prediction of severe adverse drug reactions. N Engl J Med 2008;358:637.

Kalant H, Grant DM, Mitchell J (editors): *Principles of Medical Pharmacology*, 7th ed. Saunders Elsevier, 2007. (Chapters 4 [Drug Biotransformation by Riddick DS] and 10 [Pharmacogenetics and Pharmacogenomics by Grant DM and Kalow W] are particularly relevant to this chapter).

Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (editors): *Basic & Clinical Pharmacology*, 12th ed. McGraw-Hill, 2011.

Lee C, Morton CC: Structural genomic variation and personalized medicine. N Engl J Med 2008;358:740.

Pharmacogenomics. Human Genome Project Information. http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/medicine.pharma.shtml

Rang HP, Dale MM, James M, Ritter JM, Rod J, Flower RJ: *Rang & Dale's Pharmacology*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2011.

CAPÍTULO

48

Bioquímica clínica

David A. Bender, PhD, Joe Varghese, MBBS, MD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar la importancia de los análisis de laboratorio en medicina clínica y veterinaria.
- Definir el significado de rango de referencia para los resultados de una prueba.
- Comprender la diferencia entre la precisión y la exactitud de un método de valoración, así como explicar la sensibilidad y especificidad de dicho método.
- Describir qué significan la sensibilidad, la especificidad y el valor predictivo de un análisis de laboratorio.
- Listar las técnicas que se usan comúnmente en un laboratorio de diagnóstico en el que se llevan a cabo pruebas bioquímicas y explicar el principio de cada método.
- Mencionar las causas que dan lugar a anormalidades de las concentraciones de analitos en la sangre.
- Explicar por qué las concentraciones plasmáticas altas de enzimas se consideran indicadores de daño tisular.
- Definir a grandes rasgos los diferentes requerimientos para medir una enzima en una muestra de plasma y usar una enzima para medir un analito.
- Citar las principales pruebas que pueden usarse para evaluar las funciones renal, hepática y tiroidea; describir los marcadores de riesgo cardiovascular y de la función gastrointestinal.

LA IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS DE LABORATORIO EN MEDICINA

Los análisis de laboratorio de un tipo u otro son una parte esencial de la medicina. Los análisis bioquímicos pueden usarse para hacer pruebas de detección para enfermedad, para confirmación (o exclusión) de un diagnóstico hecho con base en el examen clínico, y para vigilar la progresión de una enfermedad y el resultado del tratamiento (**cuadro 48-1**). Las muestras de sangre y orina son las más utilizadas; en ocasiones también se emplean heces, saliva o líquido cefalorraquídeo y raras veces se utilizan muestras de biopsia de tejido. La mayor parte del conocimiento y la comprensión de las causas subyacentes de enfermedades metabólicas, así como de los efectos de la enfermedad sobre el metabolismo, provienen del análisis de metabolitos en sangre y orina, además de la medición de las enzimas en la sangre. A su vez, ese conocimiento ha permitido avances en el tratamiento de enfermedades y de la creación de mejores fármacos.

Los avances en la tecnología implican que muchas pruebas que en el pasado sólo se llevaban a cabo en laboratorios especializados, ahora pueden efectuarse al lado de la cama, en el consultorio del médico o en la práctica veterinaria, a veces incluso en el hogar por los pacientes mismos, con aparatos automatizados que son fáciles de usar y que sólo requieren una cantidad limitada de capacitación para proporcionar resultados fiables. Otras pruebas aún se efectúan en laboratorios de hospitales o en laboratorios de química clínica privados, con muestras enviadas por médicos. Algunas pruebas son menos solicitadas y requieren un nivel técnico mayor para implementarse y sólo se llevan a cabo en centros especializados. Entre ellas se cuentan técnicas especializadas para estudiar enfermedades metabólicas raras (y a veces recién descubiertas). Además, los análisis de muestras de atletas (y de caballos de carreras) para fármacos que aumentan el rendimiento y para otras sustancias prohibidas, por lo general sólo se realizan en un número limitado de laboratorios que cuentan con autorización especial.

CAUSAS DE ANORMALIDADES DE LAS CONCENTRACIONES DE ANALITOS MEDIDAS EN EL LABORATORIO

Muchas enfermedades pueden llevar a anormalidades de los resultados de análisis de laboratorio; algunas de éstas se listan en el **cuadro 48-2**. La lesión de tejido que da lugar a daño de membranas celulares y un aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática lleva a escape de material intracelular hacia el torrente sanguíneo (p. ej., escape de creatina cinasa MB hacia el torrente sanguíneo después de un infarto de miocardio). En otros casos, la síntesis de proteínas y hormonas está aumentada o disminuida (p. ej., proteína C reactiva [CRP] en estados inflamatorios u hormonas en trastornos endocrinos). Las insuficiencias renal y

CUADRO 48-1 Principales usos de pruebas bioquímicas con ejemplos seleccionados de cada uno

Diagnóstico temprano de enfermedades Uso de la concentración plasmática de troponina cardíaca I en el diagnóstico temprano de infarto de miocardio
Sugerencia de tratamiento racional de enfermedad El colesterol de lipoproteína de baja densidad alto es una indicación para terapia con fármacos que disminuyen el colesterol (p. ej., estatinas) en personas en riesgo de enfermedad cardiovascular
Como pruebas de detección para el diagnóstico temprano de enfermedades Medición de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) en el diagnóstico de hipotiroidismo congénito
Vigilancia de la progresión de enfermedad Medición de la alanina aminotransferasa (ALT) sérica para vigilar el progreso de hepatitis viral
Evaluación de la respuesta de enfermedad a la terapia Medición de TSH en pacientes que están recibiendo tratamiento para hipotiroidismo o hipertiroidismo
Investigación de las causas y mecanismos de enfermedad Demostración de la naturaleza del defecto genético en la fibrosis quística

CUADRO 48-2 Causas comunes de anormalidades de analitos sanguíneos, con ejemplos seleccionados de cada una

Diversos estados fisiológicos Concentraciones sérica y urinaria altas de gonadotropina coriónica humana (hCG) durante el embarazo; lactato sanguíneo alto después de ejercicio extenuante
Cambios del equilibrio de líquidos Hipernatremia (sodio sérico alto) en pacientes que están deshidratados debido a sudoración o vómitos excesivos
Cambios del pH sanguíneo El bicarbonato sérico está bajo en presencia de acidosis metabólica (p. ej., cetoacidosis diabética), y alto en presencia de alcalosis metabólica (p. ej., vómitos graves debidos a estenosis pilórica)
Cambios de la función endocrina La TSH sérica está baja en el hipertiroidismo primario, y alta en el hipotiroidismo primario
Cambios del estado nutricional La albúmina sérica y la proteína transportadora de retinol están bajas en presencia de malnutrición proteínico-energética
Lesión o muerte celular (necrosis) La creatina cinasa MB sérica está alta en presencia de infarto de miocardio; la amilasa pancreática sérica está alta en presencia de pancreatitis
Inflamación aguda o crónica (incluso infección) La proteína C reactiva está alta en presencia de inflamación
Enfermedades genéticas La fenilalanina plasmática está alta en presencia de fenilcetonuria; el amoníaco sérico está alto en presencia de trastornos del ciclo de la urea
Insuficiencia de órgano La creatinina sérica y la urea están altas en pacientes con insuficiencia renal; el amoníaco y la bilirrubina séricos presentan valores altos en pacientes con insuficiencia hepática
Traumatismo La mioglobina sérica puede presentar concentraciones altas después de una lesión muscular
Cáncer Diversos marcadores tumorales (capítulo 56) están altos en cánceres específicos por ejemplo, α-fetoproteína en el cáncer hepatocelular, antígeno prostático específico en el cáncer prostático
Fármacos Los fármacos que se utilizan en la quimioterapia del cáncer aumentan el ácido úrico sérico
Venenos Los venenos organofosforados disminuyen la actividad de la butirilcolinesterasa en la sangre
Otros El estrés aumenta el cortisol y las catecolaminas séricos

hepática llevan a la acumulación de diversos compuestos (p. ej., creatinina y amoníaco, respectivamente) en la sangre, debido a la incapacidad del órgano específico para excretar el compuesto en cuestión o metabolizarlo.

EL RANGO DE REFERENCIA

Para cualquier compuesto que se mide (un **analito**), hay un rango de valores alrededor del promedio o la media que pueden considerarse normales; se trata del resultado de variaciones biológicas entre los individuos. Además, es factible que ocurran variaciones de un día a otro o de una semana a otra en los resultados para el mismo individuo. Por ende, el primer paso en el establecimiento de cualquier análisis de laboratorio nuevo para detectar enfermedad, diagnosticarla o vigilar el tratamiento, es determinar el rango de resultados en una población de personas sanas. Para algunos análisis, esto también implica determinar los rangos normales de analitos en personas de diferentes edades. El rango normal de algunos analitos también difiere entre varones y mujeres, y es factible que haya diferencias entre diferentes grupos étnicos que deben considerarse.

Si los resultados obtenidos para un grupo de población sana blanco (en función de la edad, el sexo y quizás el grupo étnico) están distribuidos normalmente desde el punto de vista estadístico (esto es, los resultados muestran una distribución gaussiana simétrica alrededor de la media), se considera que el rango aceptable o normal es ± 2x desviación estándar alrededor de la media. Ese rango incluye 95% de la población blanco y se conoce como el rango de referencia. Los valores fuera del rango de referencia son considerados como anormales y ameritan investigación adicional. Si los resultados de la población sana no están distribuidos normalmente desde el punto de vista estadístico, sino que muestran sesgo, se requiere un paso adicional de manipulación estadística antes de establecer un rango de referencia de 95%.

Para algunas pruebas, los resultados de diferentes laboratorios diferirán, por lo general porque usan diferentes métodos de medición. Cada laboratorio establece su propio grupo de rangos de referencia para los análisis que efectúa. Algunos laboratorios reportan los resultados como el valor a ser comparado con el rango de referencia. Otros reportan los resultados como el número de desviaciones estándar desde la media (la llamada puntuación Z). Esto permite al médico ver qué tan lejos de la media está el resultado (en otras palabras, qué tan anormal es). A veces los resultados se reportarán como 5 o 10 (o más) veces por arriba del límite normal superior.

El uso del rango de 95% como el rango de referencia tiene una consecuencia desafortunada, por azar, 5% de los resultados "normales" estará fuera del rango de referencia. Esto quedó de manifiesto por vez primera durante la década de 1970-1979, cuando se crearon los analizadores multicanal que fueron capaces de determinar 20 o más analitos en cada muestra. Casi cada muestra daba un resultado que estaba fuera del rango de referencia, pero si la misma persona daba una muestra algunos días más tarde, ese resultado al parecer anormal ahora estaba dentro del rango de referencia, aunque por azar el resultado de otro analito ahora podría estar fuera del rango de referencia. Por ende, es indispensable que el médico requiera sólo los análisis que son importantes para el diagnóstico presuntivo y no solicitar una investigación bioquímica completa.

VALIDEZ DE LOS RESULTADOS DE LABORATORIO

Los laboratorios diagnósticos están sujetos a procedimientos de inspección y regulación para evaluar la validez de sus resultados y asegurar **control de calidad** de sus reportes. Esas medidas asegurarán que el valor de la concentración, la actividad o cantidad de una sustancia en un espécimen reportado represente el mejor valor obtenible con el método, los reactivos y los instrumentos usados, y los técnicos involucrados en la obtención del espécimen y el procesamiento del mismo. Además, es importante que el personal médico entienda la validez de los resultados de laboratorio y su interpretación.

Al establecer un nuevo análisis, o un nuevo método, es necesario contestar cuatro preguntas:

1. **¿Qué tan preciso es el método?** Se trata de una medida de la reproducibilidad del método. Si la misma muestra es analizada muchas veces, ¿cuánta variación se verá en los resultados obtenidos? La **figura 48-1** ilustra esto. En este ejemplo, un grupo de resultados es mucho más preciso que el otro (hay una diferencia entre los dos en la diseminación de resultados alrededor de la media), aun cuando tienen el mismo resultado medio. La precisión no es absoluta, sino que está sujeta a variaciones inherentes en la complejidad del método usado, la estabilidad de los reactivos, la sofisticación del equipo usado para la valoración y la habilidad de los técnicos involucrados.
2. **¿Qué tan exacto es el resultado?** Esto alude a una medida de cuán cerca está el resultado al valor verdadero. La **figura 48-2** muestra los resultados de valoraciones mediante dos métodos diferentes o mediante el mismo método pero en dos laboratorios distintos. Ambos tienen precisión similar, pero sus valores medios son muy diferentes. A partir de esa información es imposible decir cuál laboratorio está en lo correcto (ésa es, en parte, la razón por la cual los laboratorios establecen sus propios rangos de referencia). Hay varios programas de control de calidad nacionales o regionales, en los cuales a todos los laboratorios participantes se envía la misma muestra de sangre u orina (agrupada). Cada laboratorio mide los diversos analitos en la muestra agrupada. Los resultados obtenidos por todos los laboratorios se grafican como una curva de distribución. Se calcula la media de estos valores y se considera que es el "valor verdadero". Dicho programa de control de calidad permite que cada laboratorio participante determine cuán cerca están sus resultados del "valor verdadero".
3. **¿Cuán sensible es el método?** En otras palabras, ¿qué tan poco del analito puede cuantificarse de manera fiable? ¿Cuál es el límite inferior de detección fiable? Esto tiene importancia obvia cuando los resultados por debajo del rango de referencia son importantes en clínica o cuando las muestras se están analizando para narcóticos o para sustancias que aumentan el rendimiento, que están prohibidas en deportes competitivos.
4. **¿Qué tan específico es el método?** Esta pregunta aborda el tema de la confianza de que la evaluación en realidad esté midiendo el analito de interés. Por ejemplo, en el método ahora

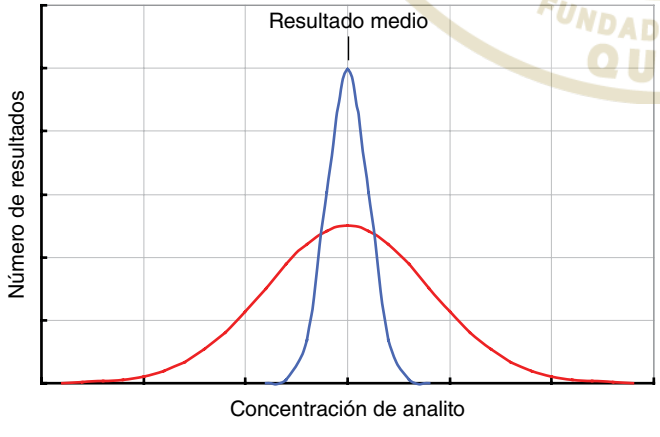


FIGURA 48-1 **Precisión de un método analítico.** El gráfico muestra los resultados de un analito medido múltiples veces en la misma muestra, sea mediante dos métodos analíticos diferentes, o por medio del mismo método en dos laboratorios diferentes. En ambos casos, el resultado medio es el mismo. Empero, un método o laboratorio, que se muestra en azul, tiene una dispersión de resultados baja y, por ende, una desviación estándar baja, y precisión alta, mientras que el otro, que se muestra en rojo, tiene una dispersión alta de resultados, una desviación estándar alta, y precisión baja.

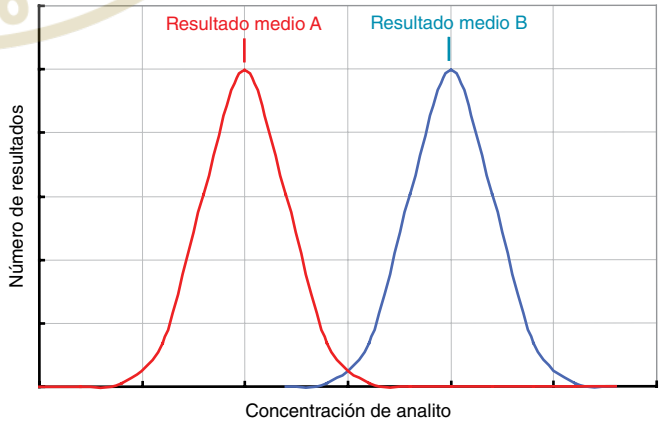


FIGURA 48-2 **Exactitud de un método analítico.** Dos métodos analíticos diferentes, efectuados en múltiples muestras, o el mismo método efectuado en dos laboratorios diferentes, con la misma dispersión de resultados y, por ende, la misma desviación estándar y la misma precisión. No obstante, los valores medios de analitos obtenidos para los dos métodos o laboratorios son muy diferentes; es imposible decir cuál resultado está más cerca del valor verdadero.

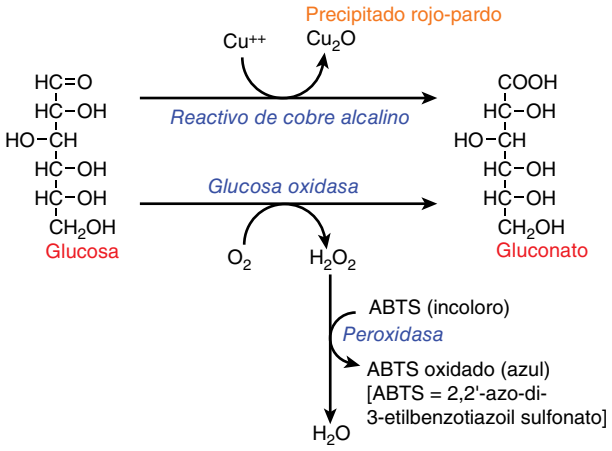


FIGURA 48-3 Especificidad de un método analítico. Medición de la glucosa en sangre mediante dos métodos. La reducción química de Cu^{2+} en solución alcalina no sólo detectará glucosa, sino cualquier otro azúcar reductor y otras sustancias como vitamina C. La oxidación enzimática de la glucosa usando glucosa oxidasa es una reacción específica; ningún otro compuesto será oxidado y contribuirá al valor obtenido.

obsoleto para medir la glucosa en sangre u orina se usaba una solución de cobre (Cu^{2+}) alcalina, que era reducida a Cu^{+} por la glucosa. Sin embargo, otros compuestos reductores en la orina o la sangre, como la xilosa o la vitamina C, también reducen el Cu^{2+}, lo que da un valor falsamente alto. Los métodos modernos de medición de la glucosa dependen de la enzima glucosa oxidasa, que sólo reacciona con glucosa y, así, son altamente específicos. Empero, uno de los productos de la acción de la glucosa oxidasa sobre la glucosa es el peróxido de hidrógeno; el segundo paso en la valoración es reducir el peróxido de hidrógeno producido a agua y oxígeno, usando peroxidasa. El medio de la valoración también contiene un compuesto incoloro que se torna azul cuando es oxidado por el oxígeno producido. Las concentraciones altas de vitamina C, como se observaría cuando el paciente está tomando complementos vitamínicos, reducen el colorante de regreso a su forma incolora lo que, así, da un resultado falso negativo (**figura 48-3**).

EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ CLÍNICA DE UNA PRUEBA DE LABORATORIO

Los cuatro criterios anteriores deben establecerse para cada método analítico. Además, el valor clínico de la prueba tiene que establecerse al tomar en consideración su sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo (**cuadro 48-3**). Aquí, lamentablemente, se usan los mismos dos términos: sensibilidad y especificidad, pero con significados muy diferentes de los que se usan en el establecimiento del método analítico.

La **sensibilidad** de una prueba se refiere al **porcentaje de resultados de la prueba positivos en pacientes que tienen la enfermedad ("positivo verdadero").** La prueba para fenilcetonuria es altamente sensible; una prueba con resultados positivos se obtiene en todos los que padecen la enfermedad (sensibilidad de 100%). La prueba de antígeno carcinoembrionario (CEA) tiene sensibilidad más baja; sólo 72% de quienes padecen carcinoma del colon tiene un resultado positivo en la prueba cuando la enfermedad es extensa, y sólo 20% de aquellos con enfermedad temprana.

La **especificidad** de una prueba se refiere al **porcentaje de resultados negativos de la prueba entre personas que no tienen la enfermedad**. La prueba para fenilcetonuria es altamente específica; 99.9% de los individuos normales tiene un resultado negativo. Sólo 0.1% tiene un resultado positivo falso. En contraste, la prueba de CEA para carcinoma del colon tiene especificidad variable; alrededor de 3% de los individuos no fumadores tiene un resultado positivo falso (especificidad de 97%), mientras que 20% de los fumadores muestra un resultado positivo falso (especificidad de 80%).

La sensibilidad y especificidad de una prueba se relacionan de manera inversa entre sí. Si el punto de corte se establece demasiado alto, muy pocas personas sanas tendrán un resultado positivo falso, pero muchas personas con la enfermedad pueden tener un resultado negativo falso. De este modo, la sensibilidad será baja, pero la especificidad será alta. Por el contrario, si el punto de corte es demasiado bajo, se detectará a la mayoría de las personas que tienen enfermedad o a todas (la prueba tendrá una sensibilidad alta). No obstante, más personas libres de enferme-

CUADRO 48-3 Sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de una prueba de laboratorio

		¿El paciente tiene la enfermedad?	
		Sí	**No**
¿Cuál es el resultado de la prueba?	**Positivo**	Positivo verdadero (a)	Positivo falso (b)
	Negativo	Negativo falso (c)	Negativo verdadero (d)
Sensibilidad	=	$\frac{\text{Positivo verdadero (a)} \times 100}{\text{Número de pacientes que tienen la enfermedad (a + c)}}$	
Especificidad	=	$\frac{\text{Negativo verdadero (d)} \times 100}{\text{Número de pacientes que no tienen la enfermedad (b + d)}}$	
Valor predictivo positivo	=	$\frac{\text{Positivo verdadero (a)} \times 100}{\text{Número de pacientes que tienen una prueba con resultados positivos (a + b)}}$	
Valor predictivo negativo	=	$\frac{\text{Negativo verdadero (d)} \times 100}{\text{Número de pacientes que tienen resultados negativos en una prueba (c + d)}}$	

dad pueden tener un resultado positivo falso (la prueba tendrá especificidad baja). De este modo, a menudo, hay un término medio entre sensibilidad y especificidad de una prueba.

El **valor predictivo de una prueba con resultados positivos** (valor predictivo positivo) define el porcentaje de resultados positivos que son positivos verdaderos. De modo similar, el **valor predictivo de una prueba con resultados negativos** (el valor predictivo negativo) define el porcentaje de resultados negativos que son resultados negativos verdaderos; esto se relaciona con la prevalencia de la enfermedad. Por ejemplo, en un grupo de pacientes en un pabellón de urología, la prevalencia de enfermedad renal es más alta que en la población general. En este grupo, la concentración sérica de creatinina tendrá un valor predictivo más alto que en la población general. El cuadro 48-3 muestra las fórmulas para calcular la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de una prueba diagnóstica.

Una prueba diagnóstica ideal es aquella que tiene sensibilidad de 100%, especificidad de 100% y valor predictivo de 100%. Sin embargo, esto no es así para la vasta mayoría de pruebas disponibles hoy en día o, de hecho, para alguna de ellas. Empero, antes de solicitar una prueba, es importante intentar determinar si la sensibilidad, la especificidad y el valor predictivo de la prueba son adecuados para proporcionar información útil. El resultado obtenido debe **influir sobre el diagnóstico, la terapia y el pronóstico, o llevar a un mejor entendimiento del proceso patológico, lo que beneficia al paciente**.

MUESTRAS PARA ANÁLISIS

Las muestras comunes para análisis son sangre y orina. La sangre se recolecta en tubos con un anticoagulante o sin él, dependiendo de si se requiere plasma o suero para la estimación. Menos a menudo, pueden usarse muestras de saliva, líquido cefalorraquídeo o heces.

Hay una diferencia entre la medición de un analito en una muestra de sangre y en la orina. La concentración de un analito en la sangre refleja la concentración en el momento en que se obtuvo la muestra, mientras que una muestra de orina representa la excreción acumulativa del analito durante un período dado. Otra diferencia es que es habitual que los resultados de pruebas de sangre se reporten como la cantidad de analito (o actividad de enzima) por mililitro o litro de sangre (o plasma o suero). Reportar la concentración del analito en la orina de la misma manera no es útil, porque el volumen de orina depende en gran parte de la ingesta de líquido. En algunos casos se solicita al paciente que proporcione una muestra de orina de 24 horas completa, lo que representa un procedimiento tedioso y es difícil saber si en realidad ha sido una recolección de 24 horas completa. De manera alternativa, la concentración del analito se reporta por mol de creatinina. La excreción de creatinina es razonablemente constante de un día a otro para cualquier individuo, pero varía entre los individuos porque depende principalmente de la masa muscular, porque la creatinina se forma de manera no enzimática a partir de creatina y creatina fosfato, la mayor parte de las cuales se encuentra en el músculo esquelético.

Salvo para la medición de los gases en sangre (para la cual se requieren muestras arteriales), las muestras de sangre por lo general son de sangre venosa. La glucosa en sangre a menudo se mide en sangre capilar a partir de un pinchazo en un dedo. En algunos análisis se usa sangre completa; otros requieren suero o plasma. Para una muestra de suero, se permite que la sangre se coagule, y a continuación el coágulo de eritrocitos y fibrina se elimina mediante centrifugación. Para una muestra de plasma, la sangre se recolecta en un tubo que contiene un anticoagulante y los eritrocitos se eliminan mediante centrifugación. La diferencia entre suero y plasma es que el plasma contiene protrombina y los otros factores de la coagulación, incluso el fibrinógeno, no así el suero. Se usan diferentes anticoagulantes para la recolección de muestras de plasma, según la valoración que va a efectuarse: citrato, EDTA u oxalato, todos los cuales producen quelación del calcio y, así, inhiben la coagulación. La heparina, que actúa al activar la antitrombina III, es otro anticoagulante usado comúnmente. Para medir la glucosa en sangre, se añade fluoruro de potasio, como un inhibidor de la glucólisis por los eritrocitos.

TÉCNICAS USADAS EN QUÍMICA CLÍNICA

Casi todas las reacciones de química clínica sistemáticas comprenden enlazar una reacción química o enzimática con la aparición de un producto coloreado que se mide mediante **espectrofotometría de absorción**. Diferentes compuestos absorben luz a diferentes longitudes de onda; la energía de la luz absorbida excita electrones a un orbital inestable (figura 14-8). La absorbancia de luz a una longitud de onda específica en el rango visible o ultravioleta es directamente proporcional a la concentración del producto final coloreado y, por ende, a la concentración del analito en la muestra. Si bien en una época esos análisis se efectuaban manualmente, en la actualidad casi todos los análisis son automatizados, y un instrumento único puede llevar a cabo múltiples valoraciones en una muestra única.

En la espectrofotometría de absorción los electrones excitados vuelven a su estado basal en una serie de pequeños saltos cuánticos y emiten luz de una longitud de onda más alta (energía más baja) que la luz que produce la excitación. Esto es fluorescencia y la técnica se conoce como **espectrofotometría de fluorescencia** o **espectrofotofluorimetría**. La muestra se ilumina con luz de una longitud de onda específica y la luz emitida se mide a ángulos rectos a la dirección de la longitud de onda de iluminación (**figura 48-4**). De nuevo, la intensidad de la fluorescencia es proporcional a la concentración del fluoróforo y, por ende, a la concentración del analito. La fluorimetría permite tanto mayor especificidad como sensibilidad del análisis. La especificidad es mayor que para la espectrofotometría de absorción porque tanto la longitud de onda excitadora como la longitud de onda emitida son específicas para el fluoróforo, mientras que para la espectrofotometría de absorción sólo hay una longitud de onda por ajustar, la de la luz que se absorbe. La fluorimetría es más sensible porque es más fácil detectar la emisión de una cantidad pequeña de luz que la absorción.

Cada vez más, especialmente en centros de investigación y de especialidad, múltiples analito se miden en la misma muestra usando **cromatografía líquida de alta presión** para separar los analitos, seguida por detección colorimétrica, fluorimétrica o electroquímica, o enlazada a espectrometría de masa para identificar compuestos. Esos métodos forman la base de la **meta-**

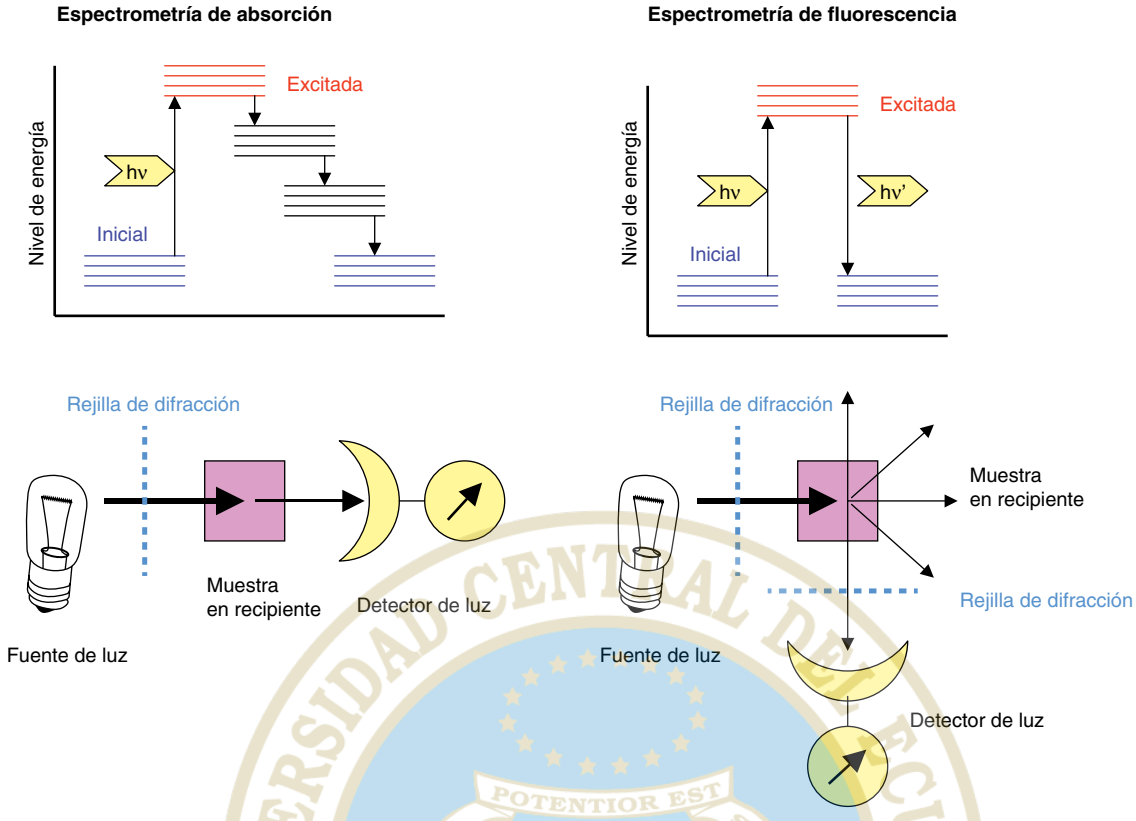


FIGURA 48-4 **Espectrometrías de absorción y de fluorescencia.** En la espectrometría de absorción, que se muestra a la izquierda, los electrones son excitados a un nivel de energía más alto inestable mediante la absorción de luz, y después vuelven a la magnitud de energía basal por medio de una serie de saltos cuánticos pequeños. La energía es liberada como calor. La diferencia entre la intensidad de la luz excitadora y la transmitida a través de la muestra, la absorbancia, es proporcional a la concentración de material absorbente en el recipiente (y la longitud de la trayectoria del recipiente). En la espectrometría de fluorescencia, que se muestra a la derecha, los electrones excitados vuelven a la magnitud de energía basal en un salto cuántico único. La energía es liberada como luz de una energía más baja (longitud de onda más alta) que la luz excitadora. La intensidad de la luz emitida, medida a ángulos rectos a la luz que sale, es proporcional a la concentración de material absorbente en el recipiente (y la longitud de la trayectoria del recipiente).

bolómica (el estudio de toda una gama de metabolitos en una muestra única) y de la **metabonómica** (el estudio de cambios en analitos en respuesta a un fármaco o tratamiento experimental de alguna clase).

Históricamente, los **electrólitos** como el sodio y el potasio se medían mediante **fotometría de llama**, al medir la luz emitida cuando el ion se introducía en una llama clara. El sodio da una llama amarilla, y el potasio, una púrpura. En la actualidad, estos iones y otros se miden usando **electrodos específicos para ion**. En algunos casos, los iones metálicos se miden mediante **espectrometría de absorción atómica**. Aquí la muestra es introducida en una llama e iluminada a una longitud de onda específica. La energía lumínica absorbida excita electrones hasta un orbital inestable y la absorción de luz es directamente proporcional a la concentración del elemento en la muestra, como sucede para la espectrofotometría de absorción.

Enzimas en química clínica

Las enzimas son importantes en química clínica de tres maneras: para medir analitos en una muestra, para medir la actividad de las enzimas mismas en una muestra, y como una prueba del estado nutricional en cuanto a vitaminas.

El uso de una enzima para medir la concentración de un analito confiere un alto grado de especificidad a la valoración, porque en general una enzima actuará sobre sólo un sustrato, o sobre una pequeña gama de sustratos estrechamente relacionados, mientras que una reacción química simple bien puede responder a diversos analitos (posiblemente no relacionados). Por ejemplo, diversos compuestos reductores reaccionarán con un reactivo de cobre alcalino para dar un resultado positivo falso para glucosa, mientras que la valoración enzimática con el uso de glucosa oxidasa sólo dará un resultado positivo para glucosa, y no para otros compuestos reductores.

Cuando se usa una enzima para detectar un analito, el factor limitante en la valoración debe ser el analito mismo; la enzima y otros reactivos deben estar presentes en exceso. Lo que es más importante, la concentración del analito en la muestra se debe ajustar para que esté por debajo de la K_m de la enzima, de modo que hay un cambio grande de la tasa de reacción con un cambio pequeño de la concentración del analito (región A en la **figura 48-5**).

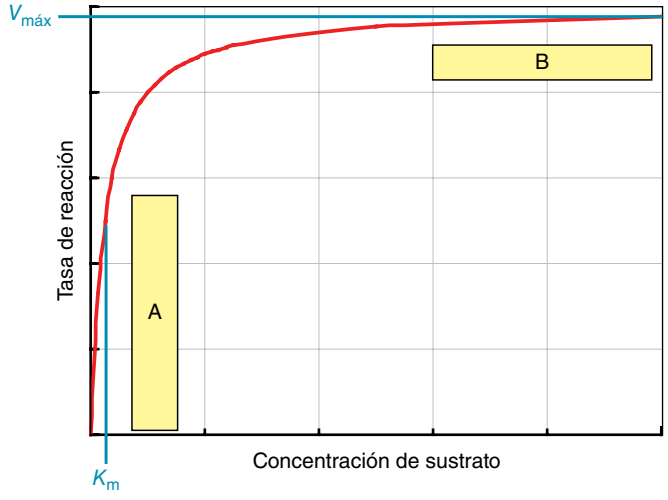


FIGURA 48-5 Uso de enzimas para medir analitos y medición de la actividad enzimática en muestras biológicas. A concentraciones de sustrato (analito) a, o por debajo de, la K_m de la enzima (región A en el gráfico), hay un aumento muy agudo de la tasa de reacción, con un cambio pequeño de la concentración de analito, de modo que la valoración ligada a enzima tiene mayor sensibilidad en este rango de concentración. A concentraciones de sustrato considerablemente por arriba de la K_m de la enzima, conforme la enzima se está aproximando a la $V_{máx}$ (región B en el gráfico), es la cantidad de enzima en la muestra la que es limitante para la tasa de formación de producto, de modo que éste es el rango apropiado de concentración de sustrato para usar para medición de la actividad enzimática en una muestra biológica.

Cuando las células son dañadas o mueren, su contenido escapa hacia el torrente sanguíneo. Por ende, la medición de enzimas en el plasma puede usarse para detectar daño de tejido; la información se obtiene a partir del patrón de enzimas (y de isoenzimas específicas para tejido) liberadas. El aumento de la actividad enzimática en el plasma por arriba del límite normal a menudo indica el grado de gravedad del daño de tejido. Cuando una valoración va a determinar la actividad de una enzima en el plasma, el factor limitante debe ser la enzima misma. La concentración de sustrato añadido debe ser considerablemente mayor que la K_m de la enzima, de modo que la enzima esté actuando en la $V_{máx}$ o cerca de la misma, e incluso un cambio relativamente grande de la concentración de sustrato no tiene un efecto significativo sobre la tasa de reacción (región B en la figura 48-5). En la práctica, esto significa que la concentración de sustrato añadido es alrededor de 20 veces más alta que la K_m de la enzima.

Si una enzima tiene una coenzima derivada de vitamina que es esencial para la actividad, la medición de la actividad de la enzima en eritrocitos con coenzima añadida y sin ella puede usarse como un índice del estado nutricional en cuanto a la vitamina. Esto proporciona una indicación del estado nutricional funcional, mientras que la medición de la vitamina y sus derivados a menudo refleja la ingesta reciente más que la suficiencia fisiológica. La suposición subyacente es que los eritrocitos tienen que competir con otros tejidos en el organismo por lo que puede ser un aporte limitado de la coenzima. Por ende, el grado al cual la enzima eritrocítica está saturada con su coenzima reflejará la disponibilidad de la coenzima durante un período que corresponde a la vida media de los eritrocitos. Esa valoración consta de incubar dos muestras del lisado de eritrocitos: una se ha preincubado con la adición de la coenzima, y una sin ella; a continuación se añade sustrato a ambas, y se mide la actividad de la enzima. En la muestra preincubada sin adición de la coenzima, sólo la enzima que se había unido a la coenzima (la holoenzima) será activa. En la muestra que se preincubó con la coenzima, cualquier apoenzima (proteína enzima inactiva sin coenzima unida) habrá sido activada a la holoenzima; por tanto, no habrá un cambio de la actividad de la enzima en el momento de la adición de coenzima, lo que indica saturación completa de la enzima con coenzima, o un incremento de actividad, que refleja la activación de la apoenzima por coenzima añadida. Los resultados se reportan como un **coeficiente de activación** de enzima (la proporción de actividad en la muestra preincubada con coenzima, y la actividad en la muestra preincubada sin coenzima). Los rangos de referencia para el coeficiente de activación se establecen de la misma manera que para cualquier otra prueba. Ese tipo de valoraciones de activación de enzima están disponibles para tiamina (vitamina B_1, usando transcetolasa de eritrocitos), riboflavina (vitamina B_2, usando glutatión reductasa eritrocítica), y vitamina B_6 (usando una u otra de las transaminasas eritrocíticas).

Valoraciones e inmunovaloraciones de unión a ligando competitivas

Si hay una proteína que se unirá a un analito, y el analito unido y libre (ligando) se puede separar y medir, es posible idear una valoración para el analito. Quizá la más simple de ese tipo de valoración de unión a ligando es la valoración para la hormona cortisol, que es transportada en el torrente sanguíneo unida a una globulina transportadora de cortisol específica. Es fácil preparar una muestra de plasma que contenga la globulina transportadora que se ha separado de su ligando (cortisol) mediante incubación con óxido de aluminio o carbón. Esto se efectúa usando una muestra grande de plasma combinado con una proporción de globulina transportadora para un gran número de ensayos. La hormona se extrae a partir de cada muestra por analizar, usando un solvente orgánico, evaporado hasta que se seca, y después disuelto en etanol y un amortiguador idóneo, con la adición de una cantidad trazadora de hormona radiactiva de actividad específica alta. A continuación se incuba cada muestra con la globulina transportadora a 37 °C, y después se enfría a 4 °C. Se añade carbón para adsorber el ligando no unido y se elimina con rapidez mediante centrifugación, tras lo cual procede medir la radiactividad en el sobrenadante. Esto da la cantidad de ligando unido y se expresa como un porcentaje de la radiactividad total añadida a cada muestra. Se construye una curva estándar usando cantidades conocidas de hormona, de modo que pueda determinarse la concentración de la hormona en la muestra.

Una amplia variedad de otras hormonas y otros analitos puede medirse de la misma manera, al producir anticuerpos monoclonales o antisueros policlonales contra el analito, por ejemplo, al inyectar el analito unido de manera covalente a una proteína a un animal. El antisuero contra una hormona producido en un único conejo puede usarse para muchos miles de valoraciones. Por supuesto, cada lote de antisuero debe probarse respecto a su especificidad para la hormona (al asegurarse de que no se une también a hormonas relacionadas, un problema especial con las hormonas esteroides), y respecto a su sensibilidad. Cuando la

proteína de unión es un anticuerpo o antisuero, la valoración por lo general se llama una **radioinmunoensayo**.

En una variante del ensayo de unión competitiva, el anticuerpo es unido de manera covalente a la superficie de perlas. Entonces es fácil separar el ligando unido y libre simplemente al lavar las perlas con amortiguador frío, dejando el ligando unido fijo a las perlas para medición de radiactividad unida. De manera alternativa, el anticuerpo puede unirse covalentemente a la superficie de un tubo de ensayo, o a cada pozo en una placa de múltiples pozos. Después de incubación, se toma la muestra para medición de la radiactividad que no está unida.

Cada vez más, a fin de minimizar la exposición a materiales radiactivos, se usa ligando o anticuerpo marcado con fluorescencia. Un desarrollo adicional es la **valoración tipo sándwich**, en la cual se usan dos anticuerpos diferentes contra el ligando, cada uno de los cuales se une a una región diferente del analito. El primer anticuerpo se une de manera covalente a la superficie de cada pozo de una placa de pozos múltiples, se añade la muestra y se incuba. Después de retirar del medio de incubación y de lavar cada pozo, se agrega el segundo anticuerpo, con lo cual el analito queda a manera de sándwich entre los dos anticuerpos. El segundo anticuerpo es marcado con un isótopo radiactivo o con un fluoróforo, lo que permite medir el segundo anticuerpo unido y, por ende, el ligando unido. En algunos casos, el segundo anticuerpo se marca con una enzima, y la medición del segundo anticuerpo unido y, por ende, del ligando unido, se efectúa al medir la actividad de la enzima que ahora está unida al pozo de cada celda de la placa, después de lavar para eliminar el segundo anticuerpo no unido y añadiendo un exceso del sustrato enzima. Se trata del **ensayo de inmunosorbente ligada a enzima (ELISA)**.

Tiras sumergibles de química seca

En diversas valoraciones las enzimas o anticuerpos y reactivos pueden combinarse en una tira de plástico especialmente diseñada. Para la medición de la glucosa en sangre, una muestra de sangre obtenida mediante pinchazo en un dedo de la mano se coloca en la tira de prueba y la concentración de glucosa se mide usando un dispositivo manual llamado el glucómetro. Esto proporciona un método sencillo y fiable para estimar la glucosa al lado de la cama en un pabellón de hospital, la clínica de un médico o incluso en el hogar. Para pruebas de orina, ensayos diferentes pueden realizarse con reactivos separados en una tira de plástico llamada una tira sumergible (p. ej., para detectar o estimar de manera semicuantitativa las concentraciones de glucosa, cuerpos cetónicos, proteína, y varios otros analitos al mismo tiempo). Se dispone de tiras sumergibles similares para detectar gonadotropina coriónica humana (hCC) en la orina, como una prueba de embarazo para uso en el hogar.

Pruebas de detección de errores congénitos del metabolismo en recién nacidos

Muchos de los errores congénitos del metabolismo pueden llevar a retraso mental muy grave si el tratamiento no se inicia en etapas muy tempranas. Para enfermedades como fenilcetonuria y enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, la restricción en la dieta de los aminoácidos que no se metabolizan normalmente (fenilalanina en la fenilcetonuria; los aminoácidos de cadena ramificada leucina, isoleucina y valina en la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce) es esencial para el manejo de la enfermedad. Por ende, en casi todos los países desarrollados es habitual que se efectúen pruebas en recién nacidos para detectar esas enfermedades. La(s) concentración(es) de(l) (los) aminoácido(s) perjudicial(es) se mide(n) en una muestra de sangre que normalmente se toma una semana después del nacimiento, cuando las enzimas que están afectadas en la enfermedad deben haber alcanzado expresión completa. Más a menudo, se obtiene una muestra de sangre capilar por medio de un pinchazo en el talón y se transfiere sobre papel absorbente para ser enviada al laboratorio para análisis.

La primera prueba de detección de ese tipo para un error congénito del metabolismo fue la prueba de la inhibición bacteriana de Guthrie. Un disco del papel que contiene la muestra de sangre se coloca sobre una placa de agar que se ha sembrado con una cepa de *Bacillus subtilis* que requiere fenilalanina, junto con un inhibidor competitivo de la captación de fenilalanina hacia las bacterias (β-tienilalanina) a una concentración tal que competirá con la fenilalanina a las cifras que normalmente se encuentran en la sangre, de modo que las bacterias no crecerán. Si la concentración de fenilalanina es mayor que la que suele encontrarse en sangre, será captada por las bacterias más que el inhibidor, y las bacterias formarán colonias visibles en el agar.

En casi todos los centros, la prueba de la inhibición bacteriana ha sido reemplazada por técnicas cromatográficas que permiten la detección de diversos metabolitos anormales y, por ende, la detección de diversos errores congénitos del metabolismo.

PRUEBAS DE FUNCIÓN DE ÓRGANO

Las pruebas que proporcionan información acerca del funcionamiento de órganos particulares a menudo se agrupan como pruebas de función de órgano. Esas pruebas agrupadas comprenden pruebas de la función de los riñones, el hígado y la tiroides.

Pruebas de función renal

El **cuadro 48-4** lista las principales pruebas de función renal. Un **examen general de orina** completo incluye evaluación de las

CUADRO 48-4 Principales pruebas de función renal

Examen general de orina
• Características físicas (evaluación del volumen, color, olor, aspecto, densidad y pH)
• Características químicas (verificación respecto a la presencia de proteína, azúcar reductor, cuerpos cetónicos, sangre, sales biliares y pigmentos biliares)
• Microscopia (búsqueda de la presencia de leucocitos, eritrocitos y cilindros)
Marcadores séricos de la función renal
• Creatinina sérica
• Urea sérica (o nitrógeno ureico sanguíneo [BUN])
Estimación de la tasa de filtración glomerular (GFR)
• Depuración de creatinina
• Depuración de inulina
Pruebas de función de los túbulos renales
• Prueba de privación de agua
• Prueba de acidificación de la orina

CUADRO 48-5 Constituyentes anormales de la orina

Constituyente	Importancia clínica	Ejemplos de enfermedades en las cuales está presente
Proteína	**Proteinuria glomerular** se refiere a la presencia de albúmina en la orina debido a pérdida de la integridad de la membrana basal glomerular	Síndrome nefrótico, glomerulonefritis aguda, nefropatía diabética, etc.
	La **proteinuria por sobreflujo** se debe a la presencia de concentraciones anormalmente altas de proteínas de bajo peso molecular en el plasma, que son filtradas por el glomérulo y, así, aparecen en la orina	Mieloma múltiple (aparecen cadenas ligeras de inmunoglobulinas en la orina, lo que da por resultado proteinuria de Bence-Jones)
	Proteinuria tubular se refiere a la presencia de proteínas de bajo peso molecular (como β_2-microglobulina) en la orina, debido a resorción alterada de estas proteínas por el túbulo proximal	Síndrome de Fanconi, nefrotoxicidad debida a antibióticos aminoglucósidos, metales pesados, etc.
	Proteinuria posrenal se refiere a la presencia de proteínas en la orina derivadas del tracto urinario	Infección del tracto urinario (UTI) que da por resultado exudados inflamatorios en la orina
Glucosa	**Glucosuria hiperglucémica**: la presencia de glucosa en la orina por lo general se observa cuando la glucosa plasmática aumenta por arriba del umbral renal de ~ 180 mg/dL	Diabetes mellitus no controlada
	Glucosuria renal: presencia de glucosa en la orina debido a resorción alterada de glucosa en el túbulo proximal	Síndrome de Fanconi y defectos hereditarios del transportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2)
Cuerpos cetónicos	Se observan concentraciones detectables en la orina (cetonuria) en enfermedades que se caracterizan por cetogénesis aumentada	Cetoacidosis diabética y cetoacidosis por inanición
Sangre	**Hematuria** se refiere a la presencia de eritrocitos en la orina, debido a sangrado hacia el tracto urinario	Cálculos renales o infecciones del tracto urinario
	Hemoglobinuria se refiere a la presencia de hemoglobina en la orina, que ocurre debido a hemólisis intravascular	Transfusiones de sangre incompatible, paludismo, etc.
Sales biliares y pigmentos biliares	La presencia de éstos en la orina se asocia con obstrucción del tracto biliar	Cálculo biliar o carcinoma de la cabeza del páncreas, que obstruye el colédoco

características físicas y químicas de la orina. Las características físicas por evaluar son el volumen de orina (esto requiere una muestra de orina cronometrada, por lo general de 24 horas), el olor, el color, aspecto (transparente o turbia), densidad y pH. La proteína, la glucosa, la sangre, cuerpos cetónicos, sales biliares y pigmentos biliares son constituyentes anormales de la orina que aparecen en diferentes estados patológicos (**cuadro 48-5**).

La **urea** y **creatinina** se excretan en la orina; sus concentraciones séricas pueden usarse como marcadores de la función renal porque la concentración sérica aumenta conforme la función renal se deteriora. La creatinina es un mejor marcador de la función renal que la urea porque su concentración en sangre no es afectada de manera significativa por factores no renales, lo que hace de ella un indicador específico de la función renal. Varios factores "prerrenales" y "posrenales" aumentan de manera significativa la concentración sanguínea de urea.

En circunstancias normales, menos de 150 mg de proteína y menos de 30 mg de albúmina, se excretan en la orina por 24 horas, lo cual se ubica por debajo del límite de detección mediante pruebas sistemáticas. La presencia de una cantidad de proteína mayor que la mencionada recibe el nombre de **proteinuria** y es un signo importante de enfermedad renal. La causa más común de proteinuria es la pérdida de la integridad de la membrana basal glomerular (proteinuria glomerular), como se observa en el síndrome nefrótico y en la nefropatía diabética. La principal proteína que se encuentra en la proteinuria glomerular es la albúmina. El cuadro 48-5 lista otras causas importantes de proteinuria. La **microalbuminuria** se define como la presencia de 30 a 300 mg de albúmina en una muestra de orina de 24 horas y es un marcador temprano de daño renal en la diabetes mellitus.

Aun cuando la creatinina sérica es un marcador de la función renal, sólo se observa un incremento significativo de su concentración en sangre cuando ha habido una declinación de alrededor de 50% de la tasa de filtración glomerular (GFR). Por ende, la medición de la creatinina sérica es una prueba con baja sensibilidad. La medición de la **depuración de creatinina** da un estimado de la GFR y, así, puede usarse para detectar las etapas tempranas de insuficiencia renal. La **depuración** es el volumen de plasma a partir del cual un compuesto se depura por completo por los riñones en una unidad de tiempo. Se calcula mediante la fórmula:

$$\text{Depuración (mL/minuto)} = (U \times V)/P$$

donde U es la concentración del analito medido en una muestra cronometrada de orina (por lo general de 24 horas); P es la concentración plasmática del analito y V es el volumen de orina producido por minuto (calculado al dividir el valor para el volumen de orina recolectada durante 24 horas por 1 440 [24 × 60]).

Un compuesto que es útil para medir la depuración renal tiene una concentración sanguínea bastante constante, sólo es excretado en la orina, es filtrado libremente en el glomérulo y no se resorbe ni se secreta por los túbulos renales. Si bien la depuración de creatinina se mide con frecuencia, sobreestima la GFR porque es secretada por los túbulos renales en un grado pequeño. La depuración de inulina es el método estándar para medir la GFR, porque satisface todos los criterios esenciales para que un compuesto se use en pruebas de depuración. No obstante, a diferencia de la creatinina, la inulina es un compuesto exógeno que tiene que administrarse por vía intravenosa a un ritmo constante.

Pruebas de función hepática

Las pruebas de función hepática (LFT) son un grupo de pruebas que ayudan en el diagnóstico, la evaluación del pronóstico y la vigilancia de la terapia de enfermedad del hígado (**cuadro**

CUADRO 48-6 Pruebas de función hepática importantes

Prueba	Aspecto de la función hepática evaluado	Principal utilidad
Concentración sérica de bilirrubina (total y conjugada)	Indicador de la capacidad del hígado para captar, conjugar y excretar bilirrubina (conjugación y función excretora)	Ayudan en el diagnóstico diferencial de ictericia (cuadro 31-3)
Proteínas totales y albúmina séricas	Medida de la función biosintética del hígado, porque el hígado es el sitio primario de síntesis de casi todas las proteínas plasmáticas	Indicador de enfermedad hepática crónica
Tiempo de protrombina	Medida de la función biosintética del hígado, puesto que varios factores de la coagulación se sintetizan en el hígado	Indicador de la gravedad de enfermedad hepática aguda y crónica
Enzimas séricas:		
Aspartato aminotransferasa (AST)	Sirve como un marcador de lesión de hepatocitos que contienen AST en abundancia	Las actividades de la AST y la ALT séricas son indicadores tempranos de daño hepático. También ayudan a vigilar la respuesta al tratamiento
Alanina aminotransferasa (ALT)	Sirve como un marcador de lesión de hepatocitos que contienen ALT en abundancia	
Fosfatasa alcalina (ALP)	Sirve como un marcador de obstrucción biliar	Ayuda en el diagnóstico de obstrucción del tracto biliar
Amoníaco en sangre	Indicador de la capacidad del hígado para destoxificar amoníaco	La concentración está alta en presencia de cirrosis del hígado con hipertensión portal, y en trastornos del ciclo de la urea

48-6). Cada prueba evalúa un aspecto específico de la función hepática. Un aumento de la **bilirrubina sérica** ocurre debido a muchas causas y da por resultado **ictericia**. En la obstrucción del conducto biliar (ictericia obstructiva), es principalmente la bilirrubina conjugada la que aumenta. En la enfermedad hepatocelular, la bilirrubina tanto conjugada como no conjugada a menudo está alta, lo que refleja la incapacidad del hígado para captar bilirrubina, conjugarla y excretarla hacia la bilis (capítulo 31). Las concentraciones séricas totales de proteína y albúmina están bajas en enfermedades hepáticas crónicas, como la cirrosis. El tiempo de protrombina (PT, capítulo 55) puede estar prolongado en trastornos agudos del hígado debido a síntesis alterada de factores de la coagulación.

Las actividades de la alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) séricas (capítulo 28) se encuentran significativamente elevadas varios días antes del inicio de ictericia en pacientes con hepatitis viral aguda. Se considera que la ALT es más específica para enfermedad del hígado que la AST, porque esta última se encuentra alta en casos de lesión de músculo cardíaco o esquelético, no así la ALT. La actividad de la fosfatasa alcalina (ALP) sérica está alta en presencia de ictericia obstructiva. También se observa una actividad alta de ALP sérica en pacientes con enfermedad ósea.

El hígado también es el sitio primario para la destoxificación de amoníaco (en el ciclo de la urea, capítulo 28). El aumento del amoníaco en sangre es un signo importante de enfermedad del hígado y desempeña una importante función en la patogenia de la encefalopatía hepática en pacientes con cirrosis hepática e hipertensión portal. El amoníaco en sangre también está alto en presencia de trastornos genéticos del ciclo de la urea.

La proporción albúmina:globulina (proporción A:G) a menudo proporciona información clínica útil. La proporción normal varía entre 1.2:1 y 1.6:1. Una inversión de la proporción A:G puede observarse en enfermedades en las cuales la concentración de albúmina es baja (hipoalbuminemia), o cuando las globulinas están anormalmente altas, por ejemplo, en el mieloma múltiple. La reversión de la proporción A:G a menudo es la primera investigación que despierta la sospecha de mieloma múltiple.

Pruebas de función tiroidea

La glándula tiroides secreta las hormonas tiroideas-tiroxina o tetrayodotironina (T_4) y triyodotironina (T_3). Las enfermedades asociadas con incremento o decremento de la síntesis de hormonas tiroideas (hipertiroidismo e hipotiroidismo, respectivamente) ocurren a menudo. Un diagnóstico clínico de un trastorno tiroideo se confirma al medir las cifras séricas de hormona estimulante de la tiroides, de tiroxina libre y triyodotironina.

La medición de la **hormona estimulante de la tiroides (TSH)** a menudo es la primera prueba que se efectúa en la evaluación de la función tiroidea. La concentración sérica de TSH está alta en el hipotiroidismo primario, y es baja o indetectable en el hipertiroidismo primario. La medición de tiroxina y triyodotironina libres

CUADRO 48-7 Diagnóstico de laboratorio de trastornos tiroideos

		Concentración de TSH	
		Alta	**Baja**
Concentración de tiroxina libre	**Alta**	Hipertiroidismo secundario[a]	Hipertiroidismo primario
	Baja	Hipotiroidismo primario	Hipotiroidismo secundario[a]

[a] El hipertiroidismo y el hipotiroidismo secundarios son mucho más raros que el hipertiroidismo y el hipotiroidismo primarios.

ayudará a establecer el diagnóstico en la mayor parte de los casos en los cuales se obtiene un valor anormal de TSH (**cuadro 48-7**).

La concentración de tiroxina sérica total puede ser afectada por cambios de la concentración de la globulina transportadora de hormona tiroidea (TBG), en ausencia de enfermedad de la tiroides. La tiroxina total rara vez se mide actualmente, porque ahora se dispone de valoraciones para medir la tiroxina libre. También se dispone de otras pruebas, como la medición de autoanticuerpos contra la tiroides. Por ejemplo, la enfermedad de Graves suele asociarse con la presencia de anticuerpos contra el receptor de TSH, mientras que la tiroiditis autoinmunitaria (tiroiditis de Hashimoto) se vincula con la presencia de anticuerpos contra peroxidasa tiroidea.

Pruebas de función suprarrenal

Un diagnóstico clínico de hiperfunción suprarrenal (síndrome de Cushing) o hipofunción suprarrenal (enfermedad de Addison) se confirma mediante pruebas de función suprarrenal. La secreción de cortisol a partir de la glándula suprarrenal muestra variación diurna; las cifras séricas de cortisol son más altas durante las primeras horas de la mañana y más bajas alrededor de la medianoche. La pérdida de esta variación diurna es uno de los signos más tempranos de hiperfunción suprarrenal. Por ende, la medición del cortisol sérico en muestras de sangre extraídas a la medianoche y a las 8 a.m. es útil como una prueba de detección. Un diagnóstico de hiperfunción suprarrenal se confirma mediante la demostración de falta de supresión de la concentración de cortisol temprano por la mañana después de la administración de 1 mg de dexametasona (un potente glucocorticoide sintético) a la medianoche; ésta es la **prueba de supresión con dexametasona**. La medición de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) puede ayudar a diferenciar entre hipercortisolismo debido a producción excesiva de ACTH (dependiente de ACTH) y enfermedades en las cuales la producción de ACTH es normal o está suprimida (independiente de ACTH). La falta de aumento del cortisol sérico después de una dosis única de Synacthen (un análogo sintético de la ACTH) es diagnóstica de hipofunción suprarrenal (**prueba de estimulación con Synacthen**). Quizá se requieran otras pruebas bioquímicas y técnicas de obtención de imágenes (CT o MRI) para diagnosticar la causa de hiperfunción o hipofunción suprarrenal.

Marcadores de riesgo cardiovascular e infarto de miocardio

Como se considera en el capítulo 25, el colesterol total plasmático y en especial la proporción de colesterol de LDL:HDL proporciona un índice del riesgo de aparición de aterosclerosis. Las lipoproteínas plasmáticas originalmente se separaban mediante centrifugación, de ahí su clasificación por densidad. Los métodos posteriores comprendieron separación mediante electroforesis. En la actualidad, se mide el colesterol total plasmático y después las lipoproteínas que contienen apoproteína B (cuadro 25-1) son precipitadas usando un catión divalente, lo que permite la medición del colesterol asociado con HDL.

Un electrocardiograma quizá no siempre muestre cambios típicos después de un infarto de miocardio. En esas circunstancias, el aumento de la concentración sérica de troponina o isoenzima MB de la creatina cinasa, cardíacas, confirma que ha sucedido un infarto de miocardio, porque estos dos marcadores son específicos para el músculo cardíaco.

Marcadores de la función gastrointestinal

La infección gástrica por *Helicobacter pylori*, la causa subyacente de casi todas las **úlceras pépticas**, es detectada principalmente al encontrar anticuerpos contra el microorganismo en el plasma o las heces. Sin embargo, *H. pylori* tiene una ureasa activa, e hidroliza urea a amoníaco y dióxido de carbono; esta producción de amoníaco permite al organismo sobrevivir en las condiciones ácidas del estómago. Una prueba diagnóstica temprana y que aún se usa para confirmar la erradicación o la persistencia de la infección después de antibioticoterapia, se basa en administrar una dosis de [^{13}C] urea y después medir el isótopo en el dióxido de carbono exhalado. Las úlceras pépticas atípicas debidas a la secreción excesiva de gastrina (a menudo como resultado de un tumor secretor de gastrina, un gastrinoma) pueden probarse al medir la concentración plasmática de gastrina en ayunas mediante inmunoensayo.

En la **pancreatitis aguda**, la actividad plasmática de la amilasa está aumentada, aunque en casos leves puede ser normal, porque la amilasa es lo bastante pequeña como para que algo se filtre en el glomérulo y se excrete en la orina. Esto significa que la medición de la amilasa en la orina también es útil en el diagnóstico de esta enfermedad. La concentración sérica de lipasa pancreática también se encuentra elevada en la pancreatitis aguda, y se considera que es más específica para pancreatitis que la amilasa, que también se sintetiza en las glándulas salivales.

En el pasado, las **deficiencias de disacaridasas** se probaban mediante la administración de una dosis relativamente grande del disacárido que se sospecha sea el responsable y se mide el incremento de la glucosa en sangre. Típicamente, se usaba una dosis de 50 g de lactosa a fin de efectuar pruebas para **alactasia**. En un paciente alactásico, ésa era una dosis lo bastante grande como para causar dolor abdominal intenso y diarrea acuosa explosiva debido al metabolismo bacteriano intestinal de la lactosa no absorbida. Una prueba más reciente comprende la administración de sólo una pequeña cantidad del disacárido, seguida por medición del hidrógeno en el aire exhalado como resultado de metabolismo por bacterias intestinales.

RESUMEN

- Las pruebas de laboratorio pueden proporcionar información útil para el diagnóstico y el tratamiento de enfermedad, así como proporcionar información acerca del metabolismo normal y de los aspectos patológicos de la enfermedad.
- El rango de referencia de un analito es el rango ± 2 x desviaciones estándar alrededor del valor medio para el grupo de población bajo consideración. Los valores fuera de este rango de referencia son sugestivos de una anormalidad que amerita más investigación.
- La precisión de un método analítico es una medida de su reproducibilidad; la exactitud de un método es una medida de qué tan cerca está el resultado del valor verdadero.
- La sensibilidad de un método analítico es una medida de cuán poco del analito puede detectarse. La especificidad es el grado

al cual otros compuestos presentes en la muestra pueden dar un resultado falso positivo.

- La sensibilidad de una prueba se refiere al porcentaje de pacientes que padecen la enfermedad, que darán un resultado positivo. La especificidad de una prueba es el porcentaje de pacientes sin la enfermedad que darán un resultado negativo.
- Las muestras para análisis por lo general se realizan en sangre y orina, aunque a veces también se usan saliva, heces y líquido cefalorraquídeo. Pueden recolectarse muestras de sangre en tubos que contienen un anticoagulante (para muestras de plasma) o sin este último (para muestras de suero).
- Muchos análisis de laboratorio se fundamentan en la producción de un producto coloreado que puede medirse mediante espectrofotometría de absorción o fluorimetría.
- Muchos compuestos pueden medirse mediante cromatografía líquida de alta presión, a veces conjuntamente con espectrometría de masa. La medición de un gran número de analitos en una muestra es la base de la metabolómica, y de la metabonómica, que es el efecto de una enfermedad, un fármaco u otro tratamiento sobre el metabolismo.
- Las enzimas pueden usarse como reactivos para proporcionar métodos de valoración sensibles y específicos para analitos. En este caso debe haber un exceso de enzima en la muestra, de modo que el factor limitante es la concentración del analito en la muestra.
- Muchas enzimas son liberadas hacia el torrente sanguíneo a partir de células que están muriendo en presencia de enfermedad, y su medición puede proporcionar información diagnóstica y pronóstica útil. A fin de determinar la actividad de una enzima en una muestra, debe haber un exceso de sustrato, de modo que el factor limitante es la cantidad de enzima presente.
- Muchos analitos (y en especial hormonas) se miden mediante valoraciones de unión competitivas, usando sea una proteína transportadora natural o un antisuero o anticuerpo monoclonal para unirse al ligando. Se usan cantidades traza de ligando radiactivo de actividad específica alta, o ligando o proteína transportadora marcado con fluorescencia.

REFERENCIAS

Beckett G, Walker S, Rae P, Ashby P: *Clinical Biochemistry.* 8th ed. Wiley-Blackwell, 2010.

Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE: *Clinical Chemistry Techniques, Principles, Correlations.* 6th ed. Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins, 2010.

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th ed. Elsevier Saunders, 2006.

Gaw A, Murphy MJ, Cowan RA, *et al*: *Clinical Biochemistry.* 4th ed. Churchill Livingstone, 2008.

Kratz A, Pesce MA, Fink DJ: Appendix: Laboratory Values of Clinical Importance. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 17th ed. Fauci AS *et al* (editors). McGraw-Hill, 2008.

Krieg AF, Gambino R, Galen RS: Why are clinical laboratory tests performed? When are they valid? JAMA 1975;233:76.

Lab Tests Online: www.labtestsonline.org (A comprehensive web site provided by the American Association of Clinical Chemists that provides accurate information on many laboratory tests).

Laposaka M: *Laboratory Medicine.* McGraw-Hill Lange, 2010.

Marshall WJ, Bangert SK, Lapsley M: *Clinical Chemistry.* 7th ed. Mosby, 2012.

MedlinePlus: http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/encyclopedia.html (The A.D.A.M. Medical Encyclopedia includes over 4000 articles about diseases, lab tests and other matters)

Preguntas de examen

Sección IX — Temas especiales (A)

1. ¿Cuál de los que siguen estará alto en el torrente sanguíneo alrededor de 1 a 2 horas después de consumir una comida alta en grasa?
   A. Quilomicrones.
   B. Lipoproteína de alta densidad.
   C. Cuerpos cetónicos.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Lipoproteína de muy baja densidad.

2. ¿Cuál de los que siguen estará alto en el torrente sanguíneo unas 4 a 5 horas después de consumir una comida alta en grasa?
   A. Quilomicrones.
   B. Lipoproteína de alta densidad.
   C. Cuerpos cetónicos.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Lipoproteína de muy baja densidad.

3. ¿Cuál de las que siguen es la mejor definición del índice glucémico?
   A. El aumento de la concentración sanguínea de glucagón después de consumir el alimento, comparado con el que se observa después del consumo de una cantidad equivalente de pan blanco.
   B. El incremento de la concentración de glucosa en sangre después de consumir el alimento.
   C. El incremento de la concentración de glucosa en sangre después de consumir el alimento, en comparación con el incremento que se observa después de consumir una cantidad equivalente de pan blanco.
   D. El incremento de la concentración sanguínea de insulina después de consumir el alimento.
   E. El incremento de la concentración sanguínea de insulina después de consumir el alimento, en comparación con el que se observa después del consumo de una cantidad equivalente de pan blanco.

4. ¿Cuál de los que siguen tendrá el índice glucémico más bajo?
   A. Una manzana cocida.
   B. Una papa horneada.
   C. Una manzana cruda.
   D. Una papa cruda.
   E. Jugo de manzana.

5. ¿Cuál de los que siguen tendrá el índice glucémico más alto?
   A. Una manzana cocida.
   B. Una papa horneada.
   C. Una manzana cruda.
   D. Una papa cruda.
   E. Jugo de manzana.

6. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a los quilomicrones es CORRECTA?
   A. Los quilomicrones se sintetizan dentro de células intestinales y se secretan hacia la linfa, donde adquieren apolipoproteínas B y C.
   B. El centro de los quilomicrones contiene triacilglicerol y fosfolípidos.
   C. La enzima lipasa sensible a hormona actúa sobre quilomicrones para liberar ácidos grasos a partir de triacilglicerol cuando están unidos a la superficie de células endoteliales en los capilares sanguíneos.
   D. Los remanentes de quilomicrón difieren de los quilomicrones en que son más pequeños y contienen una proporción más baja de triacilglicerol.
   E. Los quilomicrones son captados por el hígado.

7. Los esteroles y estanoles de plantas inhiben la absorción de colesterol a partir del tracto gastrointestinal. ¿Cuál de las que siguen describe mejor cómo actúan?
   A. Son incorporados hacia quilomicrones en lugar del colesterol.
   B. Compiten con el colesterol por la esterificación en la luz intestinal, de modo que menos colesterol es esterificado.
   C. Compiten con el colesterol por la esterificación en la célula de la mucosa, y el colesterol no esterificado es transportado de manera activa hacia afuera de la célula, hacia la luz intestinal.
   D. Compiten con el colesterol por la esterificación en la célula de la mucosa y el colesterol no esterificado no es incorporado hacia quilomicrones.
   E. Desplazan el colesterol desde micelas de lípido, de modo que no está disponible para absorción.

8. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del metabolismo de energía es CORRECTA?
   A. El tejido adiposo no contribuye al índice metabólico basal (BMR).
   B. El nivel de actividad física (PAL) es la suma de las proporciones de actividad física para diferentes actividades durante todo el día, multiplicadas por el tiempo pasado en cada actividad, expresada como un múltiplo del BMR.
   C. La proporción de actividad física (PAR) es el costo de energía de la actividad física durante todo el día.
   D. El índice metabólico en reposo (RMR) es el gasto de energía del cuerpo durante el sueño.
   E. El costo de energía de la actividad física puede determinarse al medir la producción de cociente respiratorio (RQ) durante la actividad.

9. Una paciente con cáncer colorrectal metastásico ha perdido 6 kg de peso corporal durante el último mes. ¿Cuál de las que siguen es la mejor explicación para su pérdida de peso?
   A. Debido al tumor la paciente tiene edema.
   B. La quimioterapia ha causado náuseas y pérdida del apetito.
   C. Su índice metabólico basal ha disminuido como resultado de catabolismo de proteína causado por factor de necrosis tumoral y otras citocinas.
   D. Su índice metabólico basal ha aumentado como resultado de glucólisis anaeróbica en el tumor y el costo de energía de la gluconeogénesis por el lactato resultante en el hígado.
   E. El tumor tiene un requerimiento muy alto de energía para la proliferación celular.

10. Un niño de cinco años de edad que llega a un centro de refugiados en África Oriental muestra retraso del crecimiento (sólo 89% de la estatura esperada para la edad), pero no presenta edema. Usted consideraría que el niño está:
    A. Sufriendo kwashiorkor.
    B. Sufriendo kwashiorkor marásmico.
    C. Sufriendo marasmo.

D. Sufriendo nutrición insuficiente.
E. Alimentado de manera insuficiente, pero no se considera que esté desnutrido en clínica.

11. Un niño de cinco años de edad que llega a un centro de refugiados en África Oriental muestra retraso del crecimiento (sólo 55% de la estatura esperada para la edad) pero no presenta edema. Usted consideraría que el niño está:
A. Sufriendo kwashiorkor.
B. Sufriendo kwashiorkor marásmico.
C. Sufriendo marasmo.
D. Sufriendo nutrición insuficiente.
E. Alimentado de manera insuficiente, pero no se considera que esté desnutrido en clínica.

12. ¿Cuál de las que siguen es la definición del balance de nitrógeno?
A. La ingesta de proteína como un porcentaje de la ingestión de energía total.
B. La diferencia entre la ingesta de proteína y la excreción de compuestos nitrogenados.
C. La proporción de expresión de compuestos nitrogenados/ingesta de proteína.
D. La proporción de ingesta de proteína/excreción de compuestos nitrogenados.
E. La suma de la ingesta de proteína y la excreción de compuestos nitrogenados.

13. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del balance de nitrógeno es CORRECTA?
A. Si la ingesta de proteína es mayor que los requerimientos, siempre habrá un balance positivo de nitrógeno.
B. En equilibrio de nitrógeno, la excreción de metabolitos nitrogenados es mayor que la ingesta en la dieta de compuestos nitrogenados.
C. En balance positivo de nitrógeno, la excreción de metabolitos nitrogenados es menor que la ingesta en la dieta de compuestos nitrogenados.
D. El balance de nitrógeno es la proporción de ingesta de compuestos nitrogenados/salida de metabolitos nitrogenados del cuerpo.
E. El balance positivo de nitrógeno significa que hay una pérdida neta de proteína desde el organismo.

14. En una serie de experimentos para determinar los requerimientos de aminoácidos, se alimentó a voluntarios adultos jóvenes y sanos con mezclas de aminoácidos, como su única fuente de proteína. ¿Cuál de las mezclas que siguen llevaría a un balance negativo de nitrógeno (suponiendo que todos los otros aminoácidos son proporcionados en cantidades suficientes)?
A. Una que carece de alanina, glicina y tirosina.
B. Una que carece de arginina, glicina y cisteína.
C. Una que carece de asparagina, glutamina y cisteína.
D. Una que carece de lisina, glicina y tirosina.
E. Una que carece de prolina, alanina y glutamato.

15. ¿Cuál de las vitaminas que siguen proporciona el cofactor para reacciones de reducción en la síntesis de ácidos grasos?
A. Folato.
B. Niacina.
C. Riboflavina.
D. Tiamina.
E. Vitamina B_6.

16. ¿La deficiencia de cuál de estas vitaminas es una causa importante de ceguera en todo el mundo?
A. Vitamina A.
B. Vitamina B_{12}.
C. Vitamina B_6.
D. Vitamina D.
E. Vitamina K.

17. ¿La deficiencia de cuál de estas vitaminas puede llevar a anemia megaloblástica?
A. Vitamina B_6.
B. Vitamina B_{12}.
C. Vitamina D.
D. Vitamina E.
E. Vitamina K.

18. ¿Cuál de los criterios que siguen de la suficiencia de vitamina pueden definirse como "no hay signos de deficiencia en condiciones normales, pero cualquier traumatismo o estrés revela el estado precario de las reservas del cuerpo y puede precipitar signos clínicos"?
A. Respuesta anormal a una carga metabólica.
B. Enfermedad por deficiencia clínica.
C. Deficiencia oculta.
D. Saturación incompleta de reservas corporales.
E. Deficiencia subclínica.

19. ¿Cuál de los criterios que siguen de suficiencia de vitamina puede definirse como anormalidades metabólicas en condiciones normales?
A. Respuesta anormal a una carga metabólica.
B. Enfermedad por deficiencia clínica.
C. Deficiencia oculta.
D. Saturación incompleta de las reservas corporales.
E. Deficiencia subclínica.

20. ¿Cuál de las que siguen es la mejor definición de la ingestión de nutriente de referencia (RNI) o cantidad diaria recomendada (RDA), de una vitamina o mineral?
A. Una desviación estándar por arriba del requerimiento promedio del grupo de población que se está considerando.
B. Una desviación estándar por debajo del requerimiento promedio del grupo de población que se está considerando.
C. El requerimiento promedio del grupo de población que se está considerando.
D. Dos desviaciones estándar por arriba del requerimiento promedio del grupo de población que se está considerando.
E. Dos desviaciones estándar por debajo del requerimiento promedio del grupo de población que se está considerando.

21. ¿Qué porcentaje de la población habrá satisfecho su requerimiento de una vitamina o mineral si su ingesta es igual a la RNI o RDA?
A. 2.5%.
B. 5%.
C. 50%.
D. 95%.
E. 97.5%.

22. ¿Qué porcentaje de la población habrá satisfecho su requerimiento de una vitamina o mineral si su ingesta es igual a la ingesta de nutriente de referencia más baja (LRNI)?
A. 2.5%.

B. 5%.
C. 50%.
D. 95%.
E. 97.5%.

23. ¿Qué porcentaje de la población habrá satisfecho su requerimiento de una vitamina O mineral si su ingesta es igual al requerimiento promedio?
A. 2.5%.
B. 5%.
C. 50%.
D. 95%.
E. 97.5%.

24. Para una persona cuya ingesta de una vitamina O mineral es igual al requerimiento promedio, ¿cuál es la probabilidad de que esta magnitud de ingesta sea suficiente para satisfacer su requerimiento individual?
A. 2.5%.
B. 5%.
C. 50%.
D. 95%.
E. 97.5%.

25. Para una persona cuya ingesta de una vitamina o mineral es igual a la LRNI, ¿cuál es la probabilidad de que esta magnitud de ingesta sea adecuada para satisfacer su requerimiento individual?
A. 2.5%.
B. 5%.
C. 50%.
D. 95%.
E. 97.5%.

26. Para una persona cuya ingesta de una vitamina o mineral es igual a la RNI, ¿cuál es la probabilidad de que esta magnitud de ingesta sea adecuada para satisfacer su requerimiento individual?
A. 2.5%.
B. 5%.
C. 50%.
D. 95%.
E. 97.5%.

27. ¿Cuál de las que siguen NO es una fuente de radicales de oxígeno?
A. La acción de la superóxido dismutasa.
B. Activación de macrófagos.
C. Reacciones no enzimáticas de iones de metales de transición.
D. Reacción de β-caroteno con oxígeno.
E. Radiación ultravioleta.

28. ¿Cuál de las que siguen brinda protección contra daño de tejidos por radicales de oxígeno?
A. Acción de la superóxido dismutasa.
B. Activación de macrófagos.
C. Reacciones no enzimáticas de iones de metales de transición.
D. Reacción del β-caroteno con el oxígeno.
E. Radiación ultravioleta.

29. ¿Cuál de las que siguen NO es el resultado de la acción de radical de oxígeno?
A. Activación de macrófagos.
B. Modificación de bases en el DNA.
C. Oxidación de aminoácidos en apoproteínas de LDL.
D. Peroxidación de ácidos grasos insaturados en membranas.
E. Roturas de cadena en el DNA.

30. ¿Cuál de los tipos de daño por radicales de oxígeno que siguen puede llevar a la aparición de enfermedad tiroidea autoinmunitaria?
A. Modificación química de bases del DNA en células somáticas.
B. Modificación química del DNA en células de la línea germinal.
C. Oxidación de aminoácidos en proteínas de la membrana celular.
D. Oxidación de aminoácidos en proteínas mitocondriales.
E. Oxidación de ácidos grasos insaturados en lipoproteínas plasmáticas.

31. ¿Cuál de los tipos de daño por radicales de oxígeno que siguen puede llevar a la aparición de aterosclerosis y cardiopatía coronaria?
A. Modificación química de bases de DNA en células somáticas.
B. Modificación química de DNA en células de la línea germinal.
C. Oxidación de aminoácidos en proteínas de la membrana celular.
D. Oxidación de aminoácidos en proteínas mitocondriales.
E. Oxidación de ácidos grasos insaturados en lipoproteínas plasmáticas.

32. ¿Cuál de los siguientes tipos de daño por radicales de oxígeno puede llevar a la aparición de cáncer?
A. Modificación química de bases del DNA en células somáticas.
B. Modificación química del DNA en células de la línea germinal.
C. Oxidación de aminoácidos en proteínas de la membrana celular.
D. Oxidación de aminoácidos en proteínas mitocondriales.
E. Oxidación de ácidos grasos insaturados en lipoproteínas plasmáticas.

33. ¿Cuál de los tipos de daño por radicales de oxígeno que siguen puede llevar a la aparición de mutaciones hereditarias?
A. Modificación química de bases del DNA en células somáticas.
B. Modificación química del DNA en células de la línea germinal.
C. Oxidación de aminoácidos en proteínas de la membrana celular.
D. Oxidación de aminoácidos en proteínas mitocondriales.
E. Oxidación de ácidos grasos insaturados en lipoproteínas plasmáticas.

34. ¿Cuál de las que siguen explica mejor la acción antioxidante de la vitamina E?
A. Forma un radical estable que puede reducirse de regreso a vitamina E activa mediante reacción con vitamina C.
B. Es un radical, de modo que cuando reacciona con otro radical, se forma un producto no radical.
C. Es convertida en un radical estable por reacción con vitamina C.
D. Es liposoluble y puede reaccionar con radicales libres en el plasma sanguíneo originados por la formación de óxido nítrico (NO) por el endotelio vascular.
E. La vitamina E oxidada puede reducirse de regreso a vitamina E activa por reacción con glutatión y glutatión peroxidasa.

35. ¿Cuál de las que siguen describe mejor el glicoma?
A. El DNA que codifica para glucosiltransferasas.
B. La totalidad de los carbohidratos en el cuerpo.
C. La totalidad de azúcares libres en células y tejidos.
D. La totalidad de glicoproteínas y glicolípidos en el cuerpo.
E. La totalidad de glucosiltransferasas en el cuerpo.

36. ¿Cuál de los métodos que siguen NO PUEDE usarse para determinar las estructuras de glucoproteínas?
A. Microarreglos de carbohidrato.

B. Degradación usando endoglucosidasas y exoglucosidasas.
C. Análisis del genoma.
D. Espectrometría de masa.
E. Cromatografía en sefarosa-lectina.

37. ¿Cuál de las que siguen NO es una función de las glucoproteínas?
A. Anclaje de proteínas en la superficie celular.
B. Protección de las proteínas plasmáticas contra depuración por el hígado.
C. Suministro de un sistema de transporte para folato hacia las células.
D. Suministro de un sistema de transporte para captación de lipoproteína de baja densidad hacia el hígado.
E. Suministro de señales de reconocimiento de superficie celular.

38. ¿Cuál de las que siguen NO es un constituyente de glucoproteínas?
A. Fucosa.
B. Galactosa.
C. Glucosa.
D. Manosa.
E. Sacarosa.

39. ¿Cuál de las que siguen se usa como un donante de azúcar en la síntesis del pentasacárido común de glucoproteínas N-enlazadas?
A. Ácido CMP-*N*-acetilneuramínico.
B. Dolicol pirofosfato *N*-acetilglucosamina.
C. Dolicol pirofosfato-manosa.
D. GDP-fucosa.
E. UDP-N-acetilglucosamina.

40. ¿Cuál de los que siguen NO se usa como un donante de azúcar en la síntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas en el retículo endoplasmático?
A. Dolicol pirofosfato fructosa.
B. Dolicol pirofosfato galactosa.
C. Dolicol pirofosfato manosa.
D. Dolicol pirofosfato *N*-acetilglucosamina.
E. Dolicol pirofosfato ácido *N*-acetilneuramínico.

41. ¿Cuál de las que siguen describe mejor la fijación del pentapéptido común a la apoproteína en la síntesis de una glucoproteína *N*-enlazada?
A. Glucación directa del aminoácido amino terminal del péptido.
B. Desplazamiento de la región amino terminal del péptido en una reacción de transamidación.
C. Desplazamiento de la región amino terminal del péptido en una reacción de transaminación.
D. Desplazamiento de la región carboxi terminal del péptido en una reacción de transamidación.
E. Desplazamiento de la región carboxi terminal del péptido en una reacción de transaminación.

42. ¿Cuál de los que siguen NO es una glucoproteína?
A. Colágeno.
B. Inmunoglobulina G.
C. Albúmina sérica.
D. Hormona estimulante de la tiroides.
E. Transferrina.

43. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen es INCORRECTA?
A. La calnexina asegura el plegamiento correcto de glucoproteínas en el retículo endoplasmático.
B. El oligosacárido dolicol-pirofosfato dona todos los azúcares que se encuentran en glicoproteínas *N*-enlazadas.
C. Las mucinas contienen predominantemente glucanos *O*-enlazados.
D. El ácido *N*-acetilneuramínico comúnmente se encuentra en las terminaciones de cadenas de azúcar *N*-enlazadas de glucoproteínas.
E. Las cadenas de azúcar *O*-enlazadas de glucoproteínas se construyen mediante la adición por pasos de azúcares provenientes de nucleótidos de azúcar.

44. ¿Cuál de las que siguen NO es una actividad del citocromo P450?
A. Activación de vitamina D.
B. Hidroxilación de precursores de hormona esteroide.
C. Hidroxilación de xenobióticos.
D. Hidroxilación de ácido retinoico.
E. Metilación de xenobióticos.

45. ¿Cuál de las que siguen describe mejor la redacción de un citocromo P450?
A. $RH + O_2 + NADP^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADPH$
B. $RH + O_2 + NAD^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADH$
C. $RH + O_2 + NADPH \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADP^+$
D. $RH + O_2 + NADPH \rightarrow R\text{-}OH + H_2O_2 + NADP^+$
E. $RH + O_2 + NADH \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NAD^+$

46. ¿Cuál de los que siguen es el componente lípido preferido del sistema de citocromo P450?
A. Dolicol fosfato.
B. Fosfatidilcolina.
C. Fosfatidiletanolamina.
D. Fosfatidilinositol.
E. Fosfatidilserina.

47. ¿Cuál de las que siguen describe mejor las interacciones farmacológicas entre el fenobarbital y la warfarina?
A. El fenobarbital induce el CYP2C9 y esto da por resultado catabolismo disminuido de warfarina.
B. El fenobarbital induce el CYP2C9 y esto da por resultado catabolismo aumentado de warfarina.
C. El fenobarbital reprime el CYP2C9 y esto da por resultado catabolismo aumentado de warfarina.
D. La warfarina induce el CYP2C9 y esto da por resultado catabolismo disminuido de fenobarbital.
E. La warfarina induce el CYP2C9 y esto da por resultado catabolismo aumentado de fenobarbital.

48. ¿Cuál de las que siguen describe mejor los efectos de polimorfismos del CYP2A6?
A. Las personas con el alelo activo tienen menos probabilidades de hacerse fumadores dependientes de tabaco porque este citocromo desactiva la nicotina hacia cotinina.
B. Las personas con el alelo inactivo (nulo) tienen menos probabilidades de hacerse fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo desactiva la nicotina a cotinina.
C. Las personas con el alelo inactivo (nulo) tienen menos probabilidades de hacerse fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo activa la nicotina a cotinina.
D. Las personas con el alelo inactivo (nulo) tienen más probabilidades de hacerse fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo desactiva la nicotina a cotinina.
E. Las personas con el alelo inactivo (nulo) tienen más probabilidades de hacerse fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo activa la nicotina a cotinina.

49. ¿Cuál de las que siguen NO es una función del glutatión?
    A. Coenzima para la reducción de peróxido de hidrógeno.
    B. Conjugación de bilirrubina.
    C. Conjugación de algunos productos del metabolismo fase I de xenobióticos.
    D. Transporte de aminoácidos a través de las membranas celulares.
    E. Transporte de bilirrubina en el torrente sanguíneo.

50. ¿Cuál de los siguientes enunciados describe mejor el rango de referencia para una prueba de laboratorio?
    A. Un rango ± 1 × desviación estándar alrededor del valor medio.
    B. Un rango ± 1.5 × desviación estándar alrededor del valor medio.
    C. Un rango ± 2 × desviación estándar alrededor del valor medio.
    D. Un rango ± 2.5 × desviación estándar alrededor del valor medio.
    E. Un rango ± 3 × desviación estándar alrededor del valor medio.

51. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de pruebas de laboratorio es INCORRECTA?
    A. El valor predictivo de una prueba es el grado al cual predecirá correctamente si una persona tiene o no la enfermedad.
    B. La sensibilidad y especificidad de una prueba están inversamente relacionadas.
    C. La sensibilidad de una prueba es una medida de cuántas personas con la enfermedad darán un resultado positivo.
    D. La especificidad de una prueba es una medida de cuántas personas con la enfermedad darán un resultado positivo.
    E. La especificidad de una prueba es una medida de cuántas personas sin la enfermedad darán un resultado negativo.

52. ¿Cuál de las que siguen es CORRECTA cuando una enzima se usa para medir un analito en una muestra de sangre?
    A. La concentración de sustrato debe ser de alrededor de 20 veces la K_m de la enzima.
    B. La concentración de sustrato debe ser igual a la K_m de la enzima.
    C. La concentración de sustrato debe ser igual a la K_m de la enzima o más baja.
    D. La concentración de sustrato en la valoración no es importante.
    E. La concentración de sustrato debe ser de alrededor de 1/20 de la K_m de la enzima.

53. ¿Cuál de los siguientes enunciados es el CORRECTO cuando una enzima se está midiendo en una muestra de sangre?
    A. La concentración de sustrato debe ser de alrededor de 20 veces la K_m de la enzima.
    B. La concentración de sustrato debe ser igual a la K_m de la enzima.
    C. La concentración de sustrato debe ser igual a la K_m de la enzima o más baja.
    D. La concentración de sustrato en la valoración no es importante.
    E. La concentración de sustrato debe ser de alrededor de 1/20 de la K_m de la enzima.

54. ¿Cuál de las que siguen explica mejor el uso de valoraciones de activación enzimática para evaluar el estado nutricional en cuanto a vitamina?
    A. La adición del cofactor derivado de vitamina a la incubación convierte apoenzima previamente inactiva en holoenzima activa.
    B. La adición del cofactor derivado de vitamina a la incubación convierte holoenzima previamente inactiva en apoenzima activa.
    C. La adición del cofactor derivado de vitamina a la incubación convierte holoenzima previamente activa en apoenzima inactiva.
    D. La adición del cofactor derivado de vitamina a la incubación convierte apoenzima previamente activa en holoenzima inactiva.
    E. La adición del cofactor derivado de vitamina a la incubación conduce a una reducción de la actividad de la enzima.

55. ¿Cuál de los siguientes enunciados se usaría para preparar suero a partir de una muestra de sangre?
    A. Un tubo simple.
    B. Un tubo que contiene citrato.
    C. Un tubo que contiene EDTA.
    D. Un tubo que contiene oxalato.
    E. Un tubo evacuado para excluir oxígeno.

56. ¿Cuál de los que siguen se usaría para tomar una muestra de sangre para análisis de gases en sangre?
    A. Un tubo simple.
    B. Un tubo que contiene citrato.
    C. Un tubo que contiene EDTA.
    D. Un tubo que contiene oxalato.
    E. Un tubo evacuado para excluir oxígeno.

57. ¿Cuál de los siguientes enunciados explica mejor la diferencia entre la depuración de creatinina y la depuración de inulina como pruebas de la función renal?
    A. La depuración de creatinina es más alta que la depuración de inulina porque la creatinina es secretada activamente en los túbulos renales distales.
    B. La depuración de creatinina es más alta que la depuración de inulina porque la inulina es secretada activamente en los túbulos renales proximales.
    C. La depuración de creatinina es más alta que la depuración de inulina porque la inulina es secretada activamente en los túbulos renales distales.
    D. La depuración de creatinina es más baja que la depuración de inulina porque la creatinina es secretada activamente en los túbulos renales distales.
    E. La depuración de creatinina es más baja que la depuración de inulina porque la inulina no se filtra por completo en el glomérulo.


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

SECCIÓN X

Temas especiales (B)

CAPÍTULO 49

Tráfico y distribución intracelulares de proteínas

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Saber que muchas proteínas son dirigidas por secuencias de señal a sus destinos correctos y que el aparato de Golgi desempeña una función importante en la distribución de proteínas.
- Entender que hay señales especializadas involucradas en la distribución de proteínas hacia mitocondrias, el núcleo y peroxisomas.
- Apreciar que los péptidos señal N terminal desempeñan una función clave en el direccionamiento de proteínas recién sintetizadas hacia la luz del retículo endoplasmático.
- Saber que las chaperonas evitan el plegamiento defectuoso de otras proteínas, que hay mecanismos para desechar proteínas que muestran plegamiento erróneo y que el retículo endoplasmático actúa como un compartimiento de control de calidad.
- Explicar la función de la ubiquitina como una molécula clave en la degradación de proteína.
- Reconocer la importante función de las vesículas de transporte en el transporte intracelular.
- Apreciar que muchas enfermedades se producen por mutaciones en genes que codifican para proteínas involucradas en el transporte intracelular, y estar familiarizado con los términos enfermedades conformacionales, y enfermedades de deficiencia proteostática.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Dentro de la célula, las proteínas son sintetizadas en polirribosomas, pero desempeñan sus funciones particulares en muchas ubicaciones subcelulares diferentes. Algunas están destinadas a ser componentes de orgánulos específicos, otras para el citosol o las diversas membranas celulares y aún otras para exportación. De este modo, hay considerable **tráfico intracelular de proteínas**. En 1970, Blobel reconoció por vez primera que para que las proteínas lleguen a sus ubicaciones apropiadas, por lo general contienen **información** (una señal o secuencia codificadora) que las **dirige** de manera apropiada. Esto llevó a la identificación de varias de las señales específicas (**cuadro 49-1**), y quedó de manifiesto que **ciertas enfermedades** se producen por mutaciones que afectan estas señales. En este capítulo se comentan el tráfico intracelular de proteínas y su distribución, además de que se consideran brevemente algunos de los trastornos que se producen cuando ocurren anormalidades.

MUCHAS PROTEÍNAS SON DIRIGIDAS POR SECUENCIAS SEÑAL A SUS DESTINOS CORRECTOS

Puede considerarse que las vías biosintéticas de proteína en células son un sistema de distribución grande. Muchas proteínas portan **señales** (por lo general, pero no siempre, secuencias de aminoácidos específicas) que las dirigen a su destino, lo que asegura que se suministren a la membrana o el compartimento celular apropiado; estas señales son un componente fundamental del sistema de distribución. Las secuencias señal generalmente son reconocidas e interactúan con áreas complementarias de otras proteínas que sirven como receptores para las que contienen las señales.

Una **importante decisión de distribución** se toma en etapas tempranas de la biosíntesis de proteína, cuando proteínas específicas son sintetizadas sea en **polirribosomas libres** o **unidos a**

CUADRO 49-1 Secuencias de moléculas que dirigen proteínas hacia orgánulos específicos

Secuencia o compuesto direccionador	Orgánulo establecido como objetivo
Péptido señal N terminal	ER
Secuencia KDEL carboxilo−terminal (Lis−Asp−Glu−Leu) en proteínas residentes en el ER en vesículas COPI	Luz del ER
Secuencias diácidas (p. ej., Asp−X−−Glu) en proteínas de membrana en vesículas COPII	Membranas del aparato de Golgi
Secuencia amino terminal (20 a 50 residuos)	Matriz mitocondrial
NLS (p. ej., Pro2−Lis_3−Arg−Lis−Val)	Núcleo
PTS (p. ej., Ser−Lis−Leu)	Peroxisoma
Manosa 6−fosfato	Lisosoma

Abreviaturas: NLS, señal de localización nuclear; PTS, secuencia direccionadora peroxisomal-matriz.

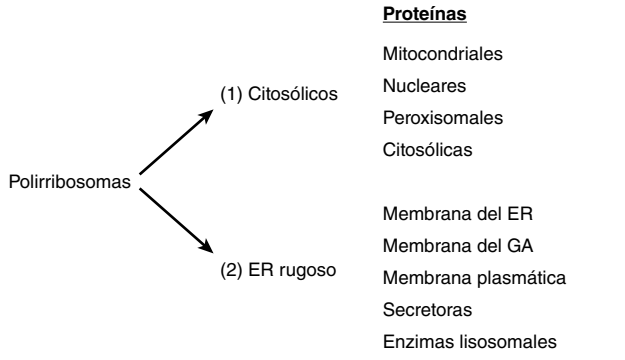


FIGURA 49-1 Las dos ramas de la distribución de proteína. Las proteínas son sintetizadas en polirribosomas citosólicos (libres) o en polirribosomas unidos a membrana en el ER rugoso. Las proteínas mitocondriales codificadas por genes nucleares se derivan de la vía citosólica. (ER, retículo endoplasmático; GA, aparato de Golgi).

membrana. En 1971, Blobel y Sabatini propusieron la **hipótesis de la señal,** en parte para explicar la distinción entre polirribosomas libres y unidos a membrana. Propusieron que las proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana contenían una extensión peptídica N terminal **(péptido señal N terminal)** que hace que queden fijos a las membranas del ER **(polirribosomas unidos a membrana)**, y facilita la transferencia de proteína hacia la luz del ER. Por otro lado, los polirribosomas que sintetizan proteínas que carecen del péptido señal retendrían el movimiento libre en el citosol **(polirribosomas citosólicos)**. Un aspecto importante de la hipótesis de la señal es que **todos los ribosomas tienen la misma estructura** y que la distinción entre ribosomas unidos a membrana y libres depende sólo de que los primeros portan proteínas que tienen péptidos señal. Dado que muchas proteínas de membrana son sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana, la hipótesis de la señal desempeña un importante papel en **conceptos de montaje de membrana**. Las regiones del ER que contienen polirribosomas unidos se llaman **ER rugoso**, y la distinción entre los dos tipos de ribosomas da lugar a dos ramas de la vía de distribución de proteínas, llamadas la **rama citosólica** y la **rama del ER rugoso (RER)** (**figura 49-1**).

Las proteínas sintetizadas por polirribosomas citosólicos son dirigidas a mitocondrias, núcleos y peroxisomas por señales específicas, o permanecen en el citosol si carecen de una señal. Cualquier proteína que contiene una secuencia de dirección que después es eliminada se denomina una **preproteína**. En algunos casos, también se elimina un segundo péptido, y en ese caso la proteína original se conoce como una **preproproteína** (p. ej., preproalbúmina; capítulo 52).

Las proteínas sintetizadas y distribuidas en la **rama del RER** (figura 49-1) incluyen muchas destinadas para diversas membranas (p. ej., del ER, el aparato de Golgi [GA], la membrana plasmática [PM]), así como enzimas lisosomales, y aquellas para **exportación desde la célula por medio de exocitosis** (secreción). Así, estas diversas proteínas pueden residir en las membranas o en la luz del ER, o seguir la ruta de transporte principal de proteínas intracelulares hacia el GA. En la **vía secretora** o **exocitótica**, las proteínas son transportadas desde el ER → GA → PM, y después son liberadas hacia el ambiente externo. Las proteínas destinadas para el GA, la PM, ciertos otros sitios, o para secreción, son transportadas en **vesículas de transporte** (**figura 49-2**); más adelante se describirá brevemente la formación de estas importantes partículas. Ciertas otras proteínas destinadas para secreción son transportadas en **vesículas secretoras** (figura 49-2); éstas son en particular prominentes en el páncreas y en ciertas otras glándulas. Su movilización y descarga se activan y desactivan cuando se requiere, y a menudo se denominan **"secreción regulada"**. En contraste, las vesículas de transporte que ocurren de manera continua mediante la vía secretora se denominan **"transporte constitutivo"**. En el capítulo 46 se describe el paso de enzimas a los lisosomas usando la señal de manosa 6-fosfato.

El aparato de Golgi está involucrado en la glucosilación y distribución de proteínas

El **GA** desempeña dos papeles importantes en la síntesis de proteína. En primer lugar, está involucrado en el **procesamiento de las cadenas de oligosacárido** de la membrana y otras glucoproteínas N-enlazadas, y contiene también enzimas involucradas en la O-glucosilación (capítulo 46). En segundo lugar, está involucrado en la **distribución** de diversas proteínas antes de su suministro a sus destinos intracelulares apropiados. Todas las partes del GA participan en el primer papel, mientras que la **red *trans*-Golgi** (TGN) está involucrada particularmente en la segunda y es muy rica en vesículas.

Las chaperonas son proteínas que estabilizan proteínas sin plegamiento o con plegamiento parcial

Las **chaperonas moleculares** son proteínas que estabilizan **intermediarios no plegados o parcialmente plegados**, lo que les da tiempo para plegarse de manera apropiada, y evita interacciones inapropiadas, lo que combate así la formación de estructuras no funcionales. Casi todas las chaperonas muestran **actividad de ATPasa**, y se unen a ADP y ATP. Esta actividad es importante para su efecto en el plegamiento de proteína. El complejo de ADP-chaperona a menudo tiene afinidad alta por la proteína

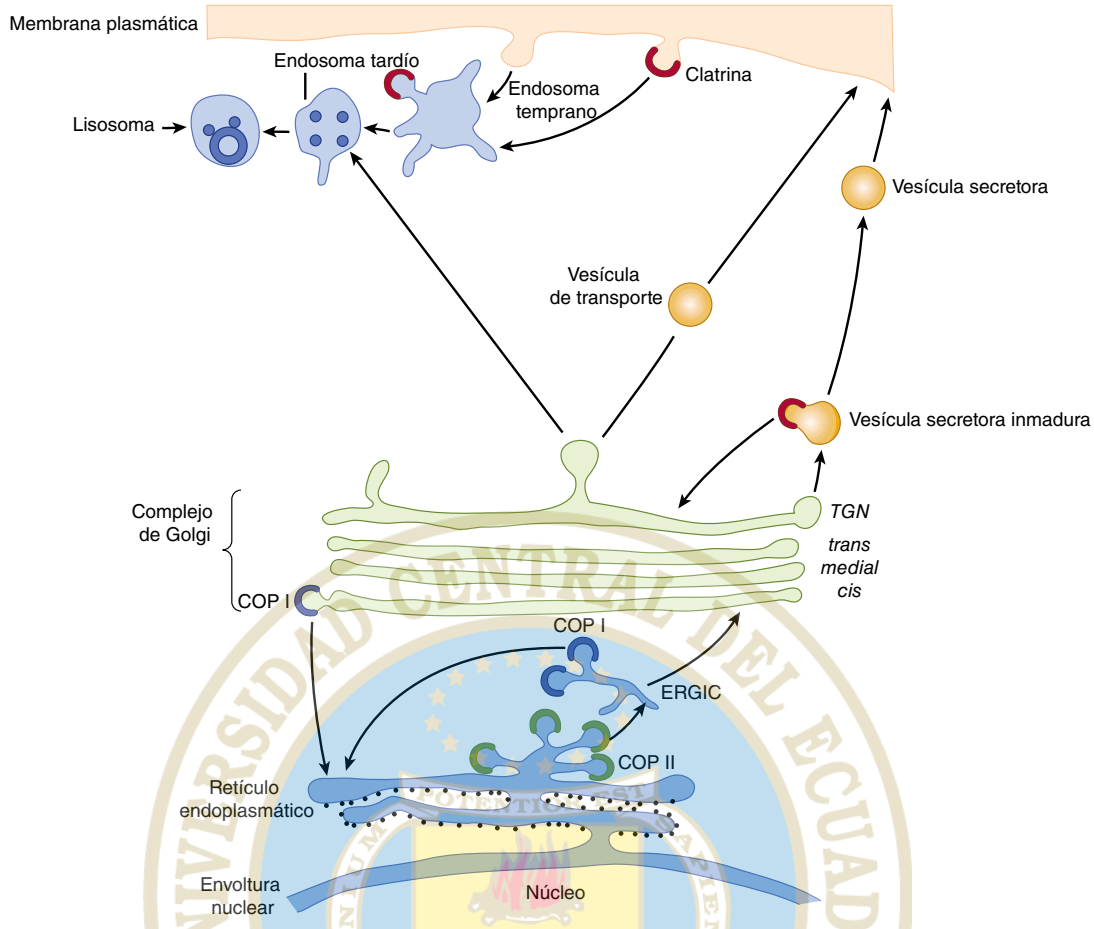


FIGURA 49-2 **La rama del ER rugoso de la distribución de proteínas.** Las proteínas recién sintetizadas son insertadas en la membrana del ER o en la luz del mismo desde polirribosomas unidos a membrana (círculos negros pequeños que tachonan la cara citosólica del ER). Las proteínas que son transportadas hacia afuera del ER son transportadas en vesículas COPII del *cis*-Golgi (transporte anterógrado). Las proteínas se mueven a través del aparato de Golgi a medida que las cisternas (estructuras tipo saco) maduran. En la red *trans*-Golgi (TGN), el lado de salida del aparato de Golgi, las proteínas son segregadas y distribuidas. Para secreción regulada, las proteínas se acumulan en vesículas secretoras, mientras que las proteínas destinadas para inserción en la membrana plasmática para secreción constitutiva son transportadas hacia afuera a la superficie celular en vesículas de transporte. Las vesículas cubiertas con clatrina están involucradas en la endocitosis, y llevan carga a endosomas tardíos y a lisosomas. La manosa 6-fosfato (que no se muestra; capítulo 46) actúa como una señal para transportar enzimas a lisosomas. Las vesículas COPI transportan proteína desde el GA al ER (transporte retrógrado) y quizás estén involucradas en algo de transporte intra-Golgi. La carga normalmente pasa por el compartimento del complejo intermedio R-Golgi (ERGIC) al GA. (Cortesía de E Degen).

no plegada, que, cuando se une, estimula la liberación de ADP con reemplazo por ATP. A su vez, el complejo de ATP-chaperona libera segmentos de la proteína que se han plegado de manera apropiada, y el **ciclo** que comprende unión de ADP y ATP se repite hasta que la proteína es liberada. Las chaperonas se requieren para el direccionamiento correcto de proteínas a sus ubicaciones subcelulares. En el **cuadro 49-2** se listan varias de las propiedades importantes de estas proteínas.

Las **chaperoninas** son la segunda clase importante de chaperonas. Forman **estructuras tipo tonel** complejas, en las cuales una proteína no plegada es secuestrada para separarla de otras proteínas, lo que le da tiempo y condiciones idóneas en las cuales plegarse de manera apropiada. La estructura de la chaperonina bacteriana **GroEL** se ha estudiado en detalle. Es polimérica, tiene dos estructuras tipo anillo, cada una compuesta de siete subunidades idénticas y, de nuevo, el ATP está involucrado en esta acción. La proteína de choque por calor **Hsp60** es el equivalente de GroEL en eucariontes.

CUADRO 49-2 **Algunas propiedades de proteínas chaperonas**

• Presentes en una amplia gama de especies, desde bacterias hasta humanos
• Muchas son las llamadas proteínas de choque por calor (Hsp)
• Algunas son inducibles por condiciones que causan pérdida del plegamiento de proteínas recién sintetizadas (p. ej., temperatura alta y diversas sustancias químicas)
• Se unen a regiones predominantemente hidrofóbicas de proteínas no plegadas y evitan su agregación
• Actúan en parte como un mecanismo de control de calidad o de edición para detectar proteínas que muestran plegamiento erróneo o que por lo demás son defectuosas
• Casi todas las chaperonas muestran actividad de ATPasa asociada; el ATP o el ADP están involucrados en la interacción entre proteína y chaperona
• Se encuentran en diversos compartimientos celulares, como el citosol, las mitocondrias y la luz del retículo endoplasmático

LA RAMA DE DISTRIBUCIÓN DE PROTEÍNA CITOSÓLICA DIRIGE PROTEÍNAS A ORGÁNULOS SUBCELULARES

Las proteínas sintetizadas por medio de la rama de distribución citosólica contienen una señal de captación, lo que les permite ser captadas hacia el orgánulo subcelular correcto o, si están destinadas para el citosol, carecen de una señal de direccionamiento. Las señales de captación específicas dirigen las proteínas a las mitocondrias, el núcleo, y peroxisomas (cuadro 49-1). Dado que la síntesis de proteína está completa antes de que ocurra transporte, estos procesos se denominan translocación postraduccional. Ahora se considerarán, a su vez, los mecanismos involucrados.

Casi todas las proteínas mitocondriales son importadas

Las **mitocondrias** contienen muchas proteínas. Trece polipéptidos (en su mayor parte componentes de membrana de la cadena de transporte de electrones) son codificados por el **genoma mitocondrial (mt)**, y sintetizados en ese orgánulo usando su propio sistema sintetizador de proteína. Sin embargo, la mayoría (al menos varios cientos) son codificados por **genes nucleares**, son sintetizados fuera de las mitocondrias en **polirribosomas citosólicos** y deben ser importados. Las **células de levadura** han resultado ser un sistema en particular útil para analizar los mecanismos de importación de proteínas mitocondriales, debido en parte a que ha resultado posible generar diversos **mutantes** que han aclarado los procesos fundamentales involucrados. Casi todo el progreso se ha hecho en el estudio de proteínas presentes en **la matriz mitocondrial**, como las subunidades de ATPasa F_1. Aquí sólo se comenta en detalle la vía de importación de proteínas de la matriz.

Las **proteínas de la matriz** deben pasar desde polirribosomas citosólicos a través de las **membranas mitocondriales externa** e **interna** para llegar a su destino. El paso por las dos membranas se llama **translocación**. Tienen una secuencia líder amino terminal **(presecuencia)**, de alrededor de 20 a 50 aminoácidos de longitud (cuadro 49-1), que no está altamente conservada, sino que es anfipática y contiene muchos aminoácidos hidrofóbicos y con carga positiva (p. ej., Lis o Arg). La presecuencia es equivalente a un péptido señal que media unión de polirribosomas a membranas del ER (véase más adelante), pero en este caso **dirige proteínas a la matriz**. En la **figura 49-3** se muestran algunas características generales del paso de una proteína desde el citosol hacia la matriz mt.

La translocación es **postraduccional**, después de que las proteínas de la matriz son liberadas desde los polirribosomas citosólicos. Antes de la translocación ocurren interacciones con diversas proteínas citosólicas que actúan como **chaperonas** (véase más adelante) y como **factores de dirección**.

Dos **complejos de translocación** separados están situados en las membranas mitocondriales externa e interna, y se denominan (respectivamente) TOM (translocasa de la membrana externa) y TIM (translocasa de la membrana interna). Cada complejo se ha analizado, y se ha encontrado que está compuesto de diversas proteínas, algunas de las cuales actúan como **receptores** (p. ej., **Tom20/22**) para las proteínas que están llegando, y otras como **componentes** (p. ej., **Tom40**) **de los poros transmembrana** a través de los cuales deben pasar estas proteínas. Las proteínas deben encontrarse en el **estado no plegado** para pasar por los complejos, y esto se hace posible mediante **unión (dependiente de ATP) a varias proteínas chaperonas**, entre ellas **Hsp70** (figura 49-3). En las mitocondrias, las chaperonas están involucradas en la translocación, distribución, plegamiento, montaje y degradación de proteínas importadas. Se requiere una **fuerza motriz de protón** a través de la membrana interna para la importación; está constituida del **potencial eléctrico** a través de la membrana (negativo en el interior) y el **gradiente de pH** (capítulo 13). La carga negativa en la matriz puede ayudar al paso de la secuencia líder con carga positiva a través de la membrana. La presecuencia es separada en la matriz por una **proteasa procesadora de matriz (MPP)**. El contacto con **otras chaperonas** presentes en la matriz es esencial para completar el proceso general de importación. La interacción con mt-Hsp70 (mt = mitocondrial; Hsp = proteína de choque por calor; 70 = ~ 70 kDa) asegura importación apropiada hacia la matriz, y evita plegamiento erróneo o agregación, mientras que la interacción con el sistema mt-Hsp60-Hsp10 asegura el plegamiento apropiado. Las interacciones de proteínas importadas con las chaperonas anteriores requiere **hidrólisis de ATP** para impulsarlas.

No se han elucidado por completo los detalles de cómo se translocan las preproteínas. Es posible que el potencial eléctrico asociado con la membrana mitocondrial interna cause un cambio conformacional en la preproteína no plegada que se está translocando y que esto ayude a empujarla para que cruce. Además, el hecho de que la matriz es más negativa que el espacio intermembrana quizás "atraiga" el amino terminal con carga positiva de la preproteína para que entre a la matriz. Para que ocurra translocación se necesita aposición estrecha en **sitios de contacto** entre las membranas externa e interna.

Lo anterior describe la principal vía de proteínas destinadas para la matriz mitocondrial. Empero, ciertas proteínas se insertan en la **membrana mitocondrial externa**, lo cual es facilitado por el complejo TOM. Otras se detienen en el **espacio intermembrana** y algunas se insertan en la **membrana interna**. Aún otras proceden hacia la matriz y después regresan a la membrana interna o al espacio intermembrana. Varias proteínas contienen dos secuencias de señalización (una para entrar a la matriz mitocondrial y la otra para mediar la reubicación subsiguiente [p. ej., en la membrana interna]). Ciertas proteínas mitocondriales no contienen presecuencias (p. ej., citocromo *c*, que se localiza en el espacio intermembrana) y otras contienen **presecuencias internas**. En general, las proteínas emplean diversos mecanismos y rutas para llegar a sus destinos finales en las mitocondrias.

En el **cuadro 49-3** se resumen las características generales que se aplican a la importación de proteínas hacia orgánulos, incluso mitocondrias y algunos de los otros orgánulos que se comentarán más adelante.

El transporte de macromoléculas hacia adentro y hacia afuera del núcleo comprende señales de localización

Se ha estimado que en una célula eucarionte activa más de un millón de macromoléculas por minuto son transportadas entre

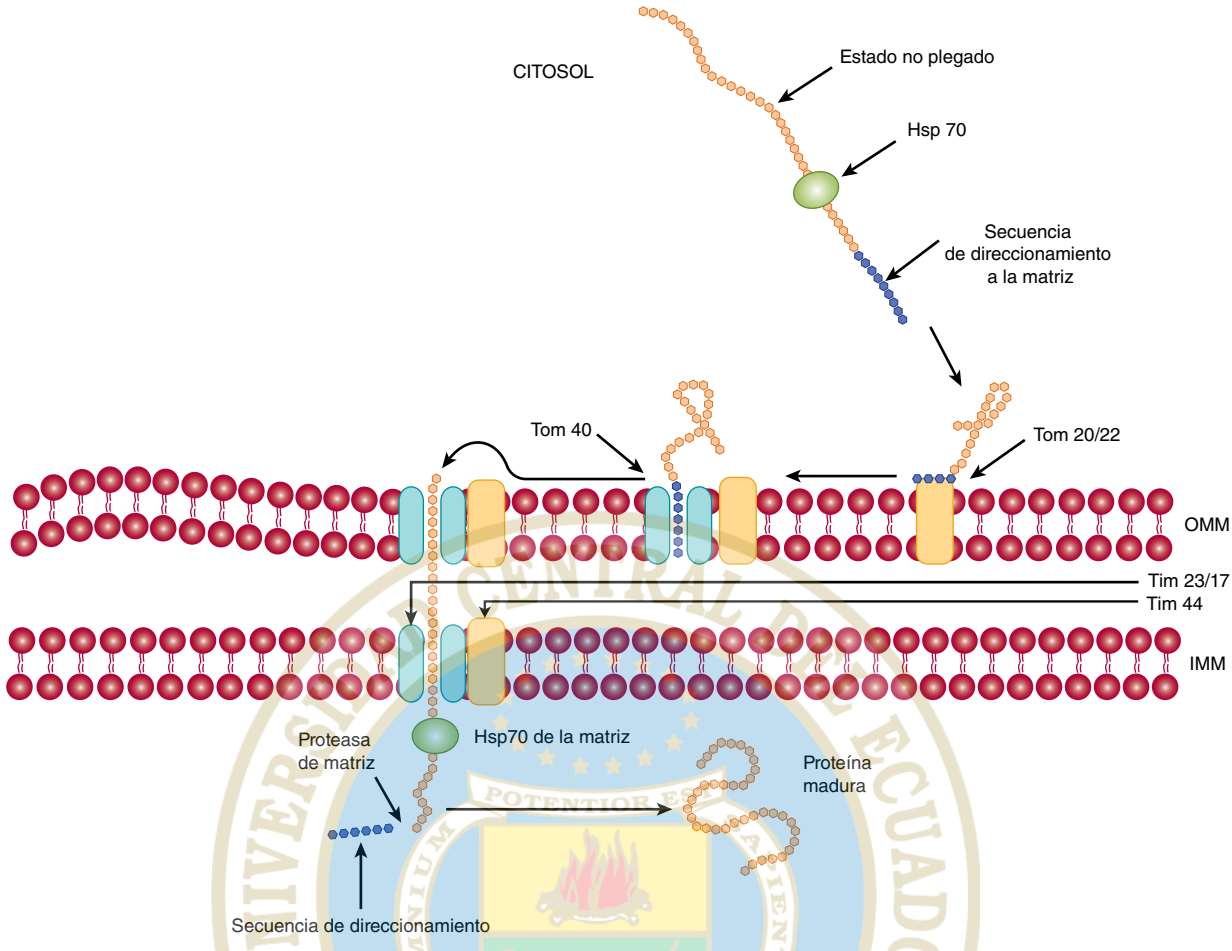


FIGURA 49-3 **Entrada de una proteína a la matriz mitocondrial.** La proteína no plegada sintetizada en polirribosomas citosólicos y que contiene una secuencia de direccionamiento a matriz, interactúa con la chaperona citosólica Hsp70, y después interactúa con el translocón del receptor de membrana externa mt de la membrana externa (Tom) 20/22, y es transferida al canal de importación Tom 40. La translocación a través del canal va seguida por transporte a través de la membrana mt interna por medio de un complejo que comprende proteínas Tim (translocón de la membrana interna) 23 y Tim 17. En el interior de la membrana mt interna, interactúa con la chaperona de la matriz Hps 70 que, a su vez, interactúa con la proteína de membrana Tim 44. La hidrólisis de ATP por Hsp70 mt probablemente ayuda a impulsar la translocación, como lo hace el interior electronegativo de la matriz. Después, la proteasa de matriz divide la secuencia de direccionamiento y la proteína importada adopta su forma final, o puede interactuar con una chaperonina mt antes de esto. En el sitio de translocación, las membranas mt externa e interna están en contacto estrecho. OMM, membrana mitocondrial externa, e IMM, membrana mitocondrial interna. (Modificado, con autorización, de Lodish H, *et al*: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. W.H. Freeman & Co, 2008).

CUADRO 49-3 **Algunas características generales de la importación de proteínas a orgánulos**

- La importación de una proteína hacia un orgánulo por lo general ocurre en tres etapas: reconocimiento, translocación y maduración
- Las secuencias direccionadoras sobre la proteína son reconocidas en el citoplasma o sobre la superficie del orgánulo
- La proteína por lo general es desplegada para translocación, un estado mantenido en el citoplasma por chaperonas
- El paso de la proteína a través de una membrana requiere energía y chaperonas de orgánulo en el lado *trans* de la membrana
- Los ciclos de unión y liberación de la proteína a la chaperona dan por resultado empuje de su cadena polipeptídica a través de la membrana
- Otras proteínas dentro del orgánulo catalizan el plegamiento de la proteína; a menudo unen cofactores u oligosacáridos y los montan en monómeros u oligómeros activos

Fuente: Datos tomados de McNew JA, Goodman JM: The targeting and assembly of peroxisomal proteins: some old rules do not apply. Trends Biochem Sci 1998;21:54. Reimpreso, con autorización, de Elsevier.

el núcleo y el citoplasma. Estas macromoléculas incluyen histonas, proteínas ribosomales y subunidades ribosomales, factores de transcripción, y moléculas de mRNA. El transporte es bidireccional y ocurre a través de los **complejos de poro nuclear** (NPC). Éstos son estructuras complejas con una masa de aproximadamente 15 veces la de un ribosoma, y están compuestas de agregados de alrededor de 30 proteínas diferentes. El diámetro mínimo de un NPC es de alrededor de 9 nm. Las moléculas de menos de aproximadamente 40 kDa pueden pasar por el canal del NPC mediante **difusión,** pero hay **mecanismos de translocación especiales** para moléculas más grandes. Estos mecanismos se están investigando de manera intensiva, pero ya han surgido algunas características importantes.

Aquí se describirá principalmente la **importación nuclear** de ciertas macromoléculas. El cuadro general que ha surgido es que las proteínas que se van a importar (moléculas de carga) portan una **señal de localización nuclear (NLS)**. Un ejemplo

de una NLS es la secuencia de aminoácidos $(Pro)_2$-$(Lis)_3$-Arg-Lis-Val (cuadro 49-1), que es notoriamente rica en residuos básicos. Dependiendo de cuál NLS contiene, una molécula de carga interactúa con una de una familia de proteínas solubles llamadas **importinas** y el complejo se **acopla** transitoriamente en el NPC. Otra familia de proteínas llamadas **Ran** desempeña un papel regulador crucial en la interacción del complejo con el NPC y en su translocación a través del NPC. Las proteínas Ran son **GTPasas** nucleares monoméricas pequeñas y, al igual que otras GTPasas, existen en estados unido a GTP o unido a GDP. Están reguladas por sí mismas por **factores de intercambio de nucleótido guanina (GEF)**, que están situados en el núcleo, y por **proteínas aceleradoras de GTPasa (GAP)** Ran, que son predominantemente citoplasmáticas. El estado unido a GTP de Ran es favorecido en el núcleo, y el estado unido a GDP, en el citoplasma. Las conformaciones y actividades de moléculas de Ran varían dependiendo de si está unido a ellas GTP o GDP (el estado unido a GTP es activo; véase la exposición sobre proteínas G en el capítulo 42). Se cree que la **asimetría** entre el núcleo y el citoplasma (respecto a cuál de estos dos nucleótidos está unido a moléculas de Ran) es crucial en el entendimiento de las funciones de Ran en la transferencia de complejos de manera unidireccional a través del NPC. Cuando se **liberan moléculas de carga** dentro del núcleo, las **importinas recirculan al citoplasma** para ser usadas de nuevo. En la **figura 49-4** se resumen algunas de las características principales en el proceso anterior.

Proteínas similares a las importinas, denominadas **exportinas**, participan en la exportación de muchas macromoléculas (diversas proteínas, moléculas de tRNA, subunidades ribosomales, y ciertas moléculas de mRNA) desde el núcleo. Las moléculas de carga para exportación portan **señales de exportación nuclear (NES)**. Las proteínas Ran también están involucradas en este proceso, y ahora se encuentra establecido que los procesos de importación y exportación comparten diversas características. La familia de importinas y exportinas se denomina **carioferinas**.

Otro sistema está involucrado en la translocación de casi todas las **moléculas de mRNA**; éstas son exportadas del núcleo al citoplasma como complejos de ribonucleoproteína (RNP) fijos a una proteína denominada **exportador mRNP**, que es una

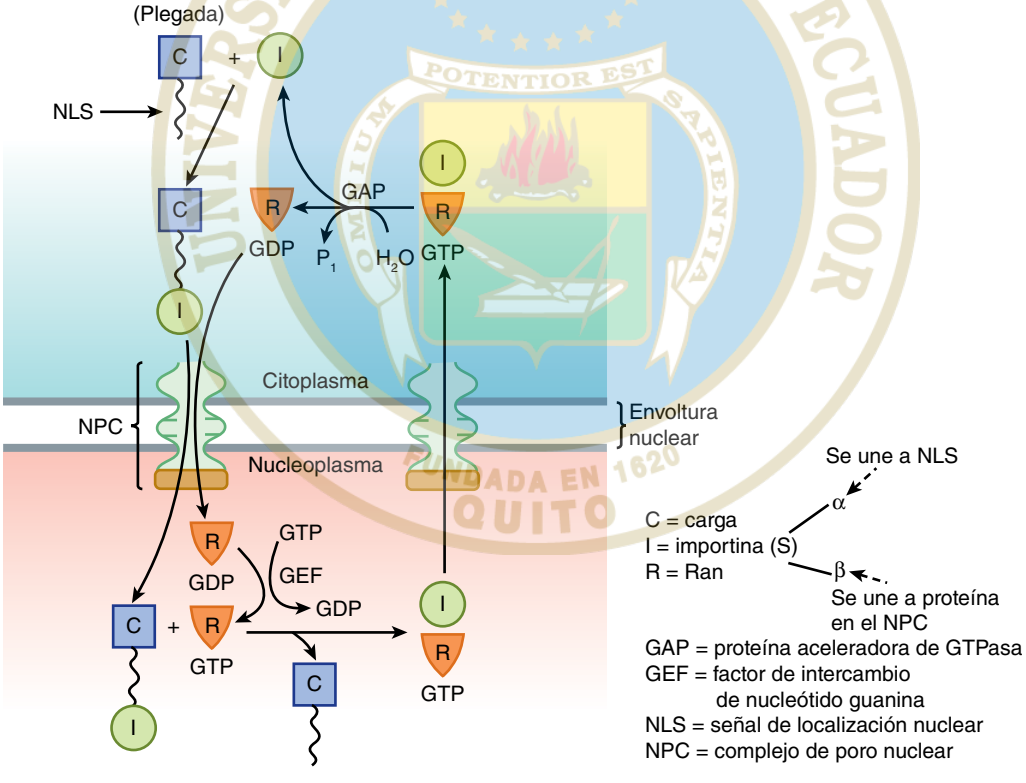


FIGURA 49-4 Representación simplificada de la entrada de una proteína al nucleoplasma. Una molécula de carga (C) en el citoplasma interactúa por medio de su señal de localización nuclear (NLS) para formar un complejo con una importina (I). (Esto puede ser importina α o tanto importina α como importina β). Este complejo interactúa con Ran (R)·GDP, y cruza el complejo de poro nuclear (NPC) hacia el nucleoplasma. En el nucleoplasma, Ran·GDP es convertida en Ran·GTP por el factor de intercambio nuclear de guanina (GEF), lo que causa un cambio conformacional en Ran que libera la molécula de carga. El complejo de I-Ran·GTP a continuación abandona el nucleoplasma por medio del NPC para volver al citoplasma. Aquí, la I es liberada para participar en otro ciclo de importación, debido a la acción de la proteína aceleradora de GTPasa (GAP), que convierte el GTP en GDP. La Ran·GTP es la forma activa del complejo; la forma Ran·GDP es inactiva. Se cree que la disociación de Ran·GTP en el citoplasma confiere direccionalidad al proceso general. (Modificado, con autorización, de Lodish H, *et al*: *Molecular Cell Biology,* 6th ed. W.H. Freeman & Co, 2008).

molécula heterodimérica (esto es, compuesta de dos subunidades diferentes, TAP [también llamada Nfx1] y Nxt-1) que transporta moléculas de RNP a través del NPC. Ran no está involucrada. Este sistema parece usar la hidrólisis de **ATP** por una RNA helicasa (Dbp5) para impulsar la translocación.

Otras **GTPasas monoméricas pequeñas** (p. ej., ARF, Rab, Ras y Rho) son importantes en diversos procesos celulares, como la formación y el transporte de vesículas (ARF y Rab; véase más adelante), ciertos procesos de crecimiento y diferenciación (Ras), y la formación del citoesqueleto de actina (Rho). Un proceso que comprende GTP y GDP también es crucial en el transporte de proteínas a través de la membrana del ER (véase más adelante).

Las proteínas importadas hacia peroxisomas portan secuencias de direccionamiento únicas

El **peroxisoma** es un orgánulo importante involucrado en aspectos del metabolismo de muchas moléculas, entre ellas ácidos grasos y otros lípidos (p. ej., plasmalógenos, colesterol, ácidos biliares), purinas, aminoácidos, y peróxido de hidrógeno. El peroxisoma está rodeado por una membrana única, y contiene más de 50 enzimas; la catalasa y la urato oxidasa son enzimas marcadoras para este orgánulo. Sus proteínas son **sintetizadas en polirribosomas citosólicos** y se pliegan antes de la importación. Se han estudiado las vías de importación de varias de sus proteínas y enzimas; algunas son **componentes de la matriz** (**figura 49-5**), y otras, **componentes de membrana**. Se han descubierto al menos dos secuencias **de direccionamiento peroxisomal-matriz (PTS)**. Una, **PTS1**, es un tripéptido (esto es, Ser-Lis-Leu [SKL], pero se han detectado variaciones de esta secuencia) situado en el carboxilo terminal de varias proteínas de la matriz, entre ellas la catalasa. Otra, **PTS2**, es una secuencia de nueve aminoácidos en el N terminal, y se ha encontrado en al menos cuatro proteínas de la matriz (p. ej., tiolasa). Ni una ni otra de estas dos secuencias es dividida después de que entra a la matriz. Las proteínas que contienen secuencias PTS1 **forman complejos** con una proteína receptora citosólica **(Pex5)** y las proteínas que contienen secuencias PTS2, forman complejos con otra proteína receptora (**Pex7**). Los complejos resultantes a continuación interactúan con un complejo de receptor de membrana, **Pex2/10/12**, que las transloca hacia la matriz. También hay proteínas involucradas en el transporte adicional de proteínas hacia la matriz.

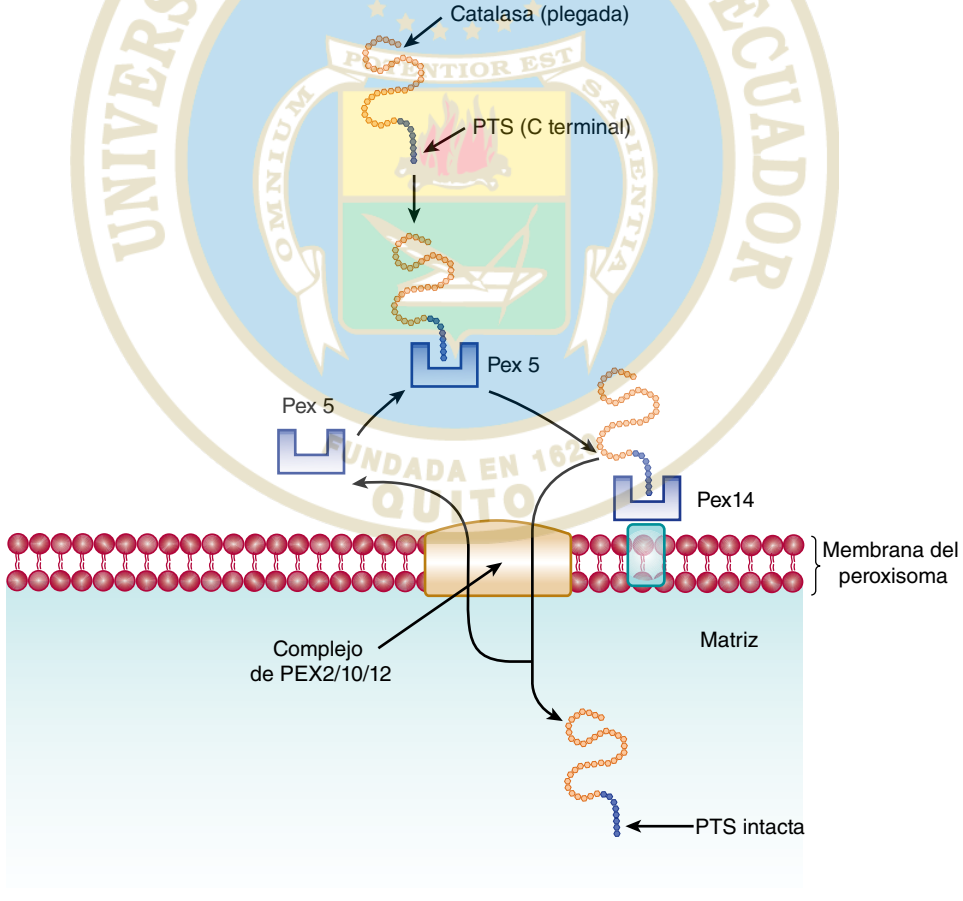


FIGURA 49-5 **Entrada de una proteína en la matriz peroxisomal.** La proteína para importación hacia la matriz es sintetizada en polirribosomas citosólicos, adopta su forma plegada antes de la importación, y contiene la secuencia de direccionamiento peroxisomal (PTS) C terminal. Interactúa con la proteína receptora citosólica Pex5, y el complejo a continuación interactúa con un receptor sobre la membrana peroxisomal, Pex14. A su vez, el complejo de proteína-Pex14 pasa al complejo de Pex 2/10/12 en la membrana peroxisomal, y es translocado. Pex es devuelta al citosol. La proteína retiene su PTS en la matriz. (Modificado, con autorización, de Lodish H, *et al*: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. W.H. Freeman & Co, 2008).

Pex5 es reciclada hacia el citosol. Se ha encontrado que casi todas las **proteínas de membrana peroxisomales** no contienen ninguna de las dos secuencias de dirección anteriores, pero parecen contener otras. El sistema de importación puede manejar **oligómeros intactos** (p. ej., catalasa tetramérica). La importación de **proteínas de la matriz** requiere **ATP**, **no** así la importación de **proteínas de la membrana**.

La mayor parte de los casos de síndrome de Zellweger se debe a mutaciones en genes involucrados en la biogénesis de peroxisomas

El interés por la importación de proteínas hacia peroxisomas ha sido estimulado por estudios sobre el **síndrome de Zellweger**, esta enfermedad queda de manifiesto en el momento del nacimiento, y se caracteriza por **deterioro neurológico profundo**; las víctimas a menudo mueren en el transcurso de un año. El número de peroxisomas puede variar desde ser casi normal hasta faltar casi por completo en algunos pacientes. Los datos bioquímicos comprenden una acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga, anormalidades de la síntesis de ácidos biliares, y reducción notoria de plasmalógenos. La enfermedad generalmente se origina por **mutaciones** en genes que codifican para ciertas proteínas (la familia de genes PEX) también llamadas **peroxinas** (involucradas en diversos pasos de la **biogénesis de peroxisoma** [como la importación de proteínas antes descrita], o en genes que codifican para ciertas enzimas peroxisomales). Dos enfermedades estrechamente relacionadas son la **adrenoleucodistrofia neonatal** y la **enfermedad de Refsum infantil**. El síndrome de Zellweger y estas dos enfermedades representan un **espectro** de características que se superponen; el síndrome de Zellweger es el **más grave** (muchas proteínas afectadas), y la enfermedad de Refsum infantil es la menos grave (sólo una o algunas proteínas afectadas). En el **cuadro 49-4** se listan estas enfermedades y enfermedades relacionadas.

CUADRO 49-4 Trastornos debidos a anormalidades peroxisomales

	Número de OMIM[a]
Síndrome de Zellweger	214100
Adrenoleucodistrofia neonatal	202370
Enfermedad de Refsum infantil	266510
Acidemia hiperpipecólica	239400
Condrodisplasia rizomélica punteada	215100
Adrenoleucodistrofia	300100
Seudoadrenoleucodistrofia neonatal	264470
Seudosíndrome de Zellweger	261515
Hiperoxaluria tipo 1	259900
Acatalasemia	115500
Deficiencia de glutaril−CoA oxidasa	231690

[a] OMIM, *Online Mendelian Inheritance in Man*. Cada número especifica una referencia en la cual puede encontrarse información respecto a cada una de las enfermedades anteriores.

Fuente: reproducido, con autorización, de Seashore MR, Wappner RS: *Genetics in Primary Care & Clinical Medicine*. Appleton & Lange, 1996.

LAS PROTEÍNAS DISTRIBUIDAS POR MEDIO DE LA RAMA DEL ER RUGOSO TIENEN PÉPTIDOS SEÑAL N TERMINAL

Como se indicó, la **rama del ER rugoso** es la segunda de las dos ramas involucradas en la síntesis de proteínas y la distribución de las mismas. En esta rama, las proteínas tienen **péptidos señal N terminal** y son sintetizadas en **polirribosomas unidos a membrana**. Por lo general se **translocan hacia la luz** del ER rugoso antes de distribución adicional (figura 49-2). No obstante, ciertas proteínas de membrana son transferidas directamente hacia la membrana del ER sin alcanzar su luz.

En el cuadro 49-5 se resumen algunas características de péptidos señal N terminal.

Hay mucha **evidencia que apoya** la hipótesis de la señal, lo cual confirma que péptidos señal N terminal están involucrados en el proceso de translocación de proteína a través de la membrana del ER. Por ejemplo, proteínas mutantes que contienen péptidos señal alterados en los cuales aminoácidos hidrofóbicos son reemplazados por otros hidrofílicos, no son insertadas en la luz del ER. Por otro lado, proteínas no de la membrana (p. ej., α-globina) a las cuales se han fijado péptidos señal mediante ingeniería genética, pueden insertarse en la luz del ER, o incluso secretarse.

La translocación de proteínas al ER puede ser cotraduccional o postraduccional

Casi todas las proteínas nacientes son transferidas a través de la membrana del ER hacia la luz mediante la **vía cotraduccional**, así llamada porque el proceso ocurre durante la síntesis de proteína en proceso. El proceso de alargamiento de la porción restante de la proteína que se está sintetizando probablemente facilita el paso de la proteína naciente a través de la bicapa lipídica. Es importante que las proteínas se mantengan en un **estado no plegado** antes de entrar al canal conductor (de otro modo pueden ser incapaces de tener acceso al canal). La vía comprende varias proteínas especializadas y procede en cinco pasos que se resumen a continuación y en la **figura 49-6**.

Paso 1: La secuencia señal surge del ribosoma y se une a la **partícula de reconocimiento de señal (SRP)**. La SRP contiene **seis proteínas** asociadas con una molécula de RNA asociada a ella. Tanto la molécula de RNA como sus proteínas desempeñan

CUADRO 49-5 Algunas propiedades de péptidos señal que dirigen proteínas al ER

- Por lo general, mas no siempre, están situados en el amino terminal
- Contienen alrededor de 12 a 35 aminoácidos
- La metionina generalmente es el aminoácido amino terminal
- Contienen una agrupación central (~ 6 a 12) de aminoácidos hidrofóbicos
- La región cerca del N terminal por lo general porta una carga positiva neta
- El residuo de aminoácido en el sitio de separación es variable, pero los residuos −1 y −3 respecto al sitio de separación deben ser pequeños y neutros

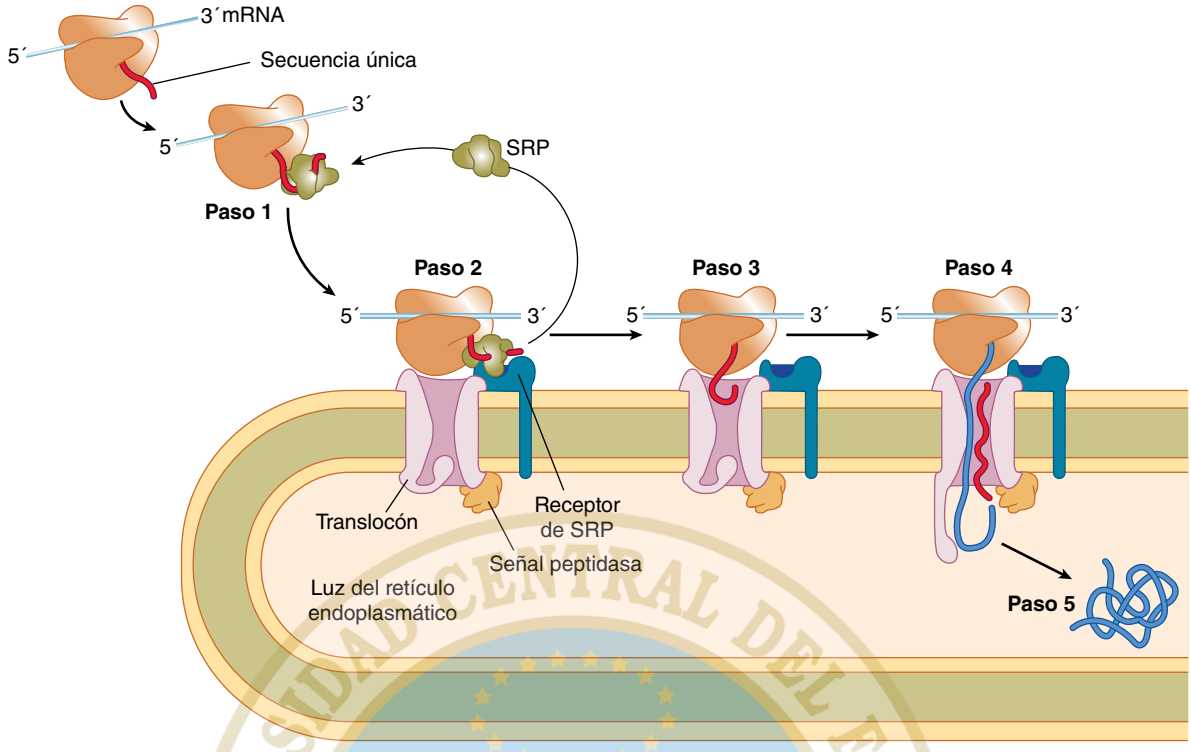


FIGURA 49-6 **Direccionamiento cotraduccional de proteínas secretoras al ER. Paso 1:** conforme la secuencia de señal surge desde el ribosoma, es reconocida y unida por la partícula de reconocimiento de señal (SRP). **Paso 2:** la SRP escolta el complejo a la membrana del ER, donde se une al receptor de SRP (SR). **Paso 3:** el SRP es liberado, el ribosoma se une al translocón y la secuencia señal es insertada en el canal de la membrana. **Paso 4:** la secuencia señal abre el translocón. La traducción se reanuda y la cadena polipeptídica en crecimiento es translocada a través de la membrana. **Paso 5:** la división de la secuencia señal por la señal peptidasa libera el polipéptido hacia la luz del ER. (Reproducido, con autorización, de Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates, Inc, 2009).

diversos papeles (como unión a otras moléculas) en esta función. Este paso suspende temporalmente el alargamiento adicional de la cadena polipeptídica (paro del alargamiento) después de que se han polimerizado alrededor de 70 aminoácidos.

Paso 2: El complejo de SRP-ribosoma-proteína naciente viaja a la membrana del ER, donde se une al **receptor de SRP (SRP-R)**, una proteína de la membrana del ER compuesta de **subunidades α y β**; esta última abarca la membrana del ER. La SRP guía el complejo al SRP-R, lo que evita expulsión prematura del polipéptido en crecimiento hacia el citosol.

Paso 3: la SRP es liberada, se reanuda la traducción, el ribosoma se une al **translocón (complejo Sec 61)**, y el péptido señal se inserta en el canal en el translocón. La SRP y ambas subunidades del SRP-R pueden unirse a **GTP** que debe estar en la forma de GTP en ambos complejos para permitirles que interactúen. Cuando ocurre interacción, el GTP es hidrolizado, la SRP se disocia del SRP-R y es liberada, y el ribosoma se une al translocón, lo que permite que el péptido señal entre en él.

Paso 4: El péptido señal induce abertura del canal en el translocón al unirse a ciertos residuos hidrofóbicos en él, lo que de este modo hace que el tapón (mostrado en la parte inferior del translocón en la figura 49-6) se mueva. El polipéptido que está creciendo a continuación es translocado por completo a través de la membrana, impulsado por su síntesis continua. El **translocón** consta de tres proteínas de membrana (el complejo Sec61) que forma un **canal conductor de proteína** en la membrana del ER a través del cual la proteína recién sintetizada puede pasar. El canal **sólo se abre cuando un péptido señal está presente**, lo cual preserva la conductancia a través de la membrana del ER cuando se cierra. El cierre del canal cuando no se están translocando proteínas evita que iones como calcio y otras moléculas escapen a través de él, y causen disfunción celular.

Paso 5: La **señal peptidasa** divide el péptido señal, y el polipéptido/proteína translocado por completo es liberado hacia la luz del ER. El péptido señal probablemente es degradado por proteasas. Los ribosomas son liberados de la membrana del ER y se disocian hacia sus dos tipos de subunidades.

Las **proteínas secretoras** y las **proteínas solubles destinadas para orgánulos distales al ER** cruzan por completo la bicapa de la membrana y son descargadas hacia la luz del ER. Muchas proteínas secretoras son N-glucosiladas. Las **cadenas de *N*-glucano**, si están presentes, son añadidas por la enzima **oligosacárido: proteína transferasa** (capítulo 46) conforme estas proteínas cruzan la parte interna de la membrana del ER (un proceso llamado **glucosilación cotraduccional**). Después, estas glucoproteínas se encuentran en la **luz del aparato de Golgi**, donde ocurren cambios adicionales de cadenas de glucano (capítulo 46) antes de distribución intracelular o secreción.

En contraste, las proteínas embebidas en **membranas del ER**, así como en **otras membranas** a lo largo de la vía secretoras sólo se **translocan parcialmente** a través de la membrana del ER (pasos 1 a 4 antes descritos). Pueden insertarse en la membrana del ER mediante transferencia lateral a través de la pared del translocón (véase más adelante).

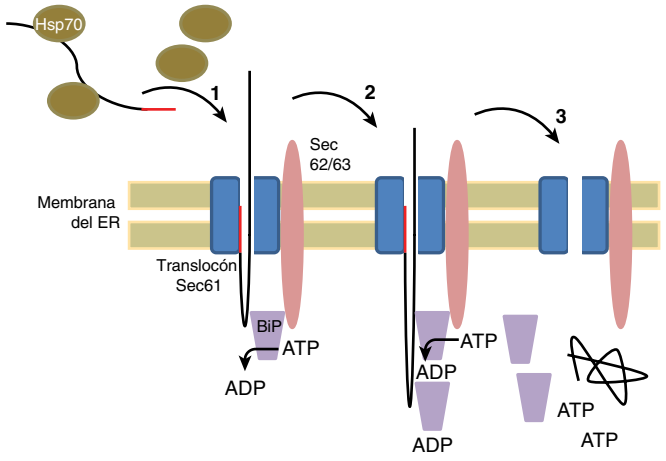


FIGURA 49-7 Translocación postraduccional de proteínas hacia el ER. 1. Proteínas chaperonas, como los miembros de la familia Hsp70, evitan el plegamiento de proteínas sintetizadas en el citosol. La secuencia señal N terminal se inserta en el complejo de translocón Sec61 y las chaperonas citosólicas son liberadas. La BiP interactúa con la proteína y el complejo Sec 62/63, y su ATP unido es hidrolizado a ADP. 2. La BiP unida evita que la proteína se mueva de regreso hacia el citosol y la unión sucesiva de BiP y la hidrólisis de ATP empuja la proteína hacia la luz. 3. Cuando la proteína entera está dentro, el ADP es intercambiado por ATP y se libera BiP.

La **translocación postraduccional** de proteínas hacia el ER ocurre en eucariontes, aunque es menos común que la ruta cotraduccional. El proceso (**figura 49-7**) comprende el complejo de translocón Sec61, el **complejo Sec 62/Sec63**, que también está unido a la membrana, y proteínas chaperonas de la familia Hsp70. Algunos de éstos evitan el plegamiento de proteína en el citosol, pero uno de ellos, la **proteína de unión a inmunoglobulina (BiP)**, está dentro de la luz del ER. La proteína que se va a translocar inicialmente se une al translocón y se liberan chaperonas citosólicas. El extremo líder del péptido a continuación se une a BiP en la luz. El ATP unido a BiP interactúa con Sec62/63, el ATP es hidrolizado a ADP, lo que proporciona energía para mover la proteína hacia adelante, mientras que la BiP-ADP unida evita su movimiento hacia atrás, hacia el citosol. Entonces puede ser traccionado a través por la unión secuencial de moléculas de BiP e hidrólisis de ATP. Cuando la proteína entera ha entrado a la luz, el ADP se intercambia por ATP, lo que permite que se libere la BiP. Además de su función en la distribución de proteínas a la luz del ER, la BiP **promueve el plegamiento apropiado al evitar agregación** y temporalmente se unirá a cadenas pesadas de inmunoglobulina y muchas otras proteínas que muestran plegamiento anormal, lo que evita que salgan del ER.

Hay evidencia de que la membrana del ER está involucrada en el **transporte retrógrado** de diversas moléculas desde la luz del ER **hacia el citosol**. Estas moléculas incluyen glucoproteínas no plegadas o plegadas de modo erróneo, glucopéptidos, y oligosacáridos. Al menos algunas de estas moléculas son **degradadas en proteasomas** (véase más adelante). La participación del translocón en la retrotranslocación no está clara; quizás estén involucrados uno o más canales. Cualquiera que sea el caso, hay **tráfico bidireccional** a través de la membrana del ER.

LAS PROTEÍNAS SIGUEN VARIAS RUTAS PARA SER INSERTADAS EN LAS MEMBRANAS DEL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO, O PARA SER UNIDAS A LAS MISMAS

Las rutas que las proteínas siguen para ser insertadas en las membranas del ER son inserción cotraduccional; inserción postraduccional; retención en el GA seguida por recuperación hacia el ER y transporte retrógrado desde el GA.

La inserción cotraduccional requiere secuencias de paro de transferencia o secuencias de inserción internas

En la **figura 49-8** se muestran diversas maneras en las cuales las proteínas están distribuidas en membranas. En particular, puede observarse que los **amino terminales** de ciertas proteínas (p. ej., el receptor de LDL) se encuentran en la cara extracitoplasmática, mientras que para otras proteínas (p. ej., el receptor de asialoglucoproteína) los **carboxilo terminales** se encuentran en esta cara. Estas disposiciones son explicadas por los eventos biosintéticos iniciales en la membrana del ER. Proteínas como el **receptor de LDL** entran en la membrana del ER de una manera análoga a una proteína secretora (figura 49-6); cruzan parcialmente la membrana del ER, el péptido señal es dividido, y su amino terminal sobresale hacia la luz (figura 49-14). Sin embargo, este tipo de proteína contiene un segmento altamente hidrofóbico que actúa como una **señal de suspensión o paro de la transferencia,** y causa su retención en la membrana (**figura 49-9**). Esta secuencia tiene su extremo N terminal en la luz del ER, y el C terminal en el citosol; la señal de paro de la transferencia forma el segmento transmembrana único de la proteína, y es su dominio de anclaje de membrana. Se cree que la proteína sale del translocón hacia la membrana mediante una compuerta lateral que se abre y cierra continuamente, y permite que secuencias hidrofóbicas entren en la bicapa lipídica.

El parche pequeño de membrana del ER en el cual está situado el receptor de LDL recién sintetizado, después queda integrado como un componente de una vesícula de transporte que finalmente se fusiona con la membrana plasmática, de modo que el C terminal mira hacia el citosol, y el N terminal ahora mira al exterior de la célula (figura 49-14). En contraste, el **receptor de asialoglucoproteína** carece de un péptido señal N terminal separable, pero posee una **secuencia de inserción interna**, que se inserta en la membrana pero no es separada. Esto actúa como un ancla, y su C terminal es extrudido a través de la membrana hacia la luz del ER. El citocromo P450 es anclado de una manera similar, pero su N terminal en lugar de su C terminal, es extrudido hacia la luz. La disposición más compleja de un **transportador transmembrana** (p. ej., para glucosa) que puede tener que cruzar la membrana hasta 12 veces, puede explicarse por el hecho de que las α-hélices transmembrana alternantes actúan como secuencias de inserción no separadas, y como señales de suspensión de la transferencia, respectivamente. Cada par de segmentos helicoidales es insertado como una horquilla. Las secuencias que determinan la estructura de una proteína en una membrana se

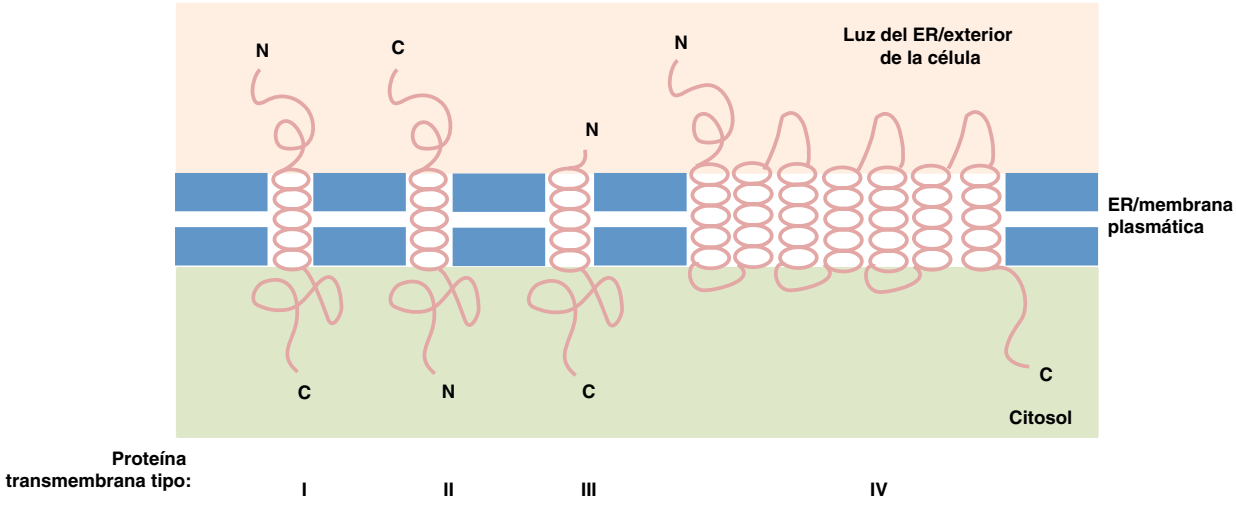


FIGURA 49-8 Variaciones de la manera en la cual las proteínas son insertadas hacia membranas. Esta representación esquemática ilustra varias de las posibles orientaciones. Las orientaciones se forman inicialmente en la membrana del ER, pero son retenidas cuando las vesículas brotan y se fusionan con la membrana plasmática (figura 46-14), de modo que el terminal que inicialmente mira la luz del ER siempre mira el exterior de la célula. Proteínas transmembrana tipo I (p. ej., el receptor de LDL y la hemaglutinina del virus de la gripe) cruzan la membrana una vez y tienen sus amino terminales en la luz del ER/el exterior de la célula. Las proteínas transmembrana tipo II (p. ej., la asialoglucoproteína y los receptores de transferrina) también cruzan la membrana una vez, pero tienen sus C terminales en la luz del ER/el exterior de la célula. Las proteínas transmembrana tipo III (p. ej., citocromo P450, una proteína de la membrana del ER) tienen una disposición similar a la de las proteínas tipo I, pero no contienen un péptido señal separable. Las proteínas transmembrana tipo IV (p. ej., receptores acoplados a proteína G y transportadores de glucosa) cruzan la membrana varias veces (siete veces para los primeros y 12 veces para los segundos); también se llaman proteínas de membrana politópicas. (C, carboxilo terminal; N, amino terminal).

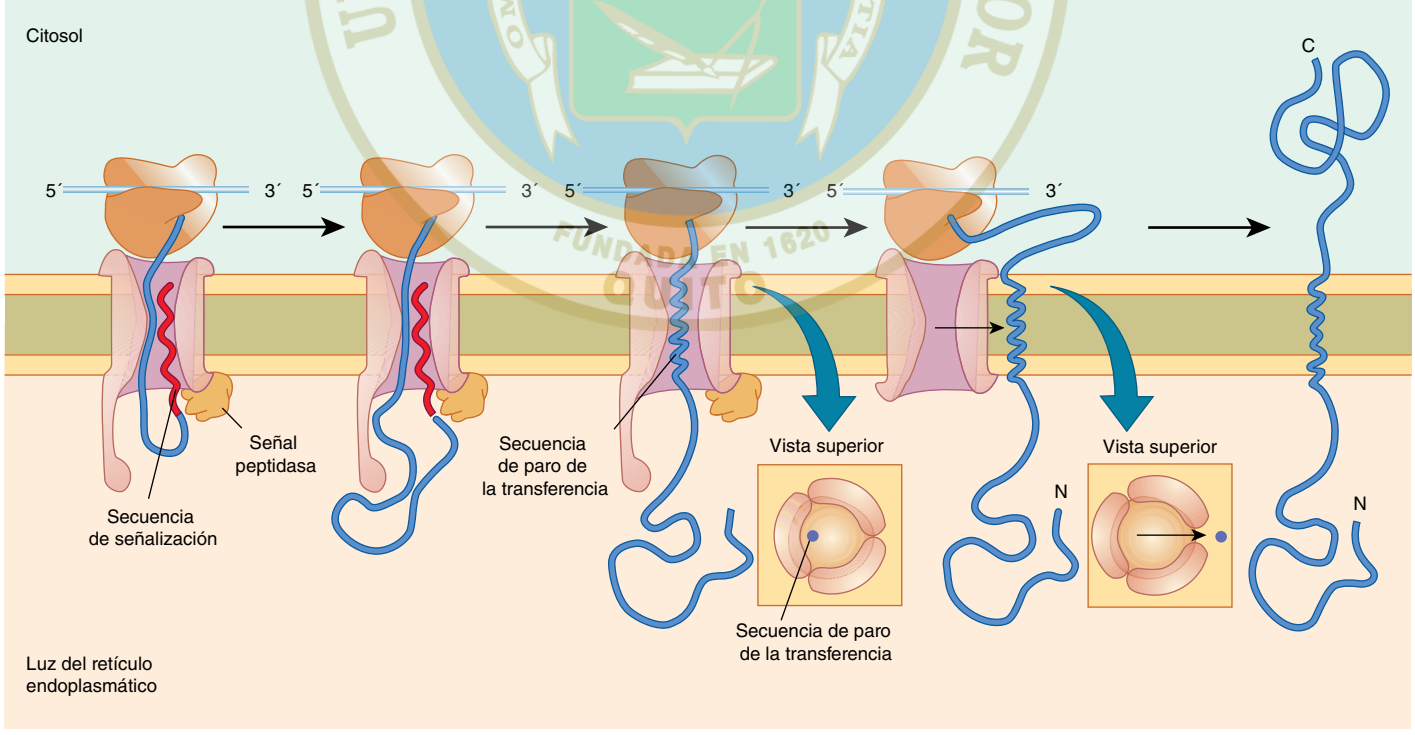


FIGURA 49-9 Inserción de una proteína de membrana con una secuencia de señalización separable y una secuencia de paro de transferencia única. La secuencia señal es separada conforme la cadena polipeptídica cruza la membrana, de modo que el amino terminal de la cadena polipeptídica es expuesto en la luz del ER. Empero, la translocación de la cadena polipeptídica a través de la membrana es suspendida cuando el translocón reconoce una secuencia de paro de la transferencia transmembrana. Esto permite que la proteína salga del canal por una compuerta lateral y quede anclada en la membrana del ER. La traducción continua da por resultado una proteína que abarca la membrana con su carboxilo terminal en el lado citosólico. (Reproducido, con autorización, de Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates, Inc, 2009).

llaman **secuencias topogénicas**. El receptor de LDL, el receptor de asialoglucoproteína, y el transportador de glucosa, son ejemplos de proteínas transmembrana tipo I, tipo II y tipo IV, y se encuentran en la membrana plasmática, mientras que el citocromo P450 es un ejemplo de una proteína tipo III que permanece en la membrana del ER (figura 49-8).

Algunas proteínas son sintetizadas en polirribosomas libres unidos a la membrana del retículo endoplasmático postraduccionalmente

Las proteínas pueden entrar a la membrana del ER postraduccionalmente a través de la compuerta lateral en el translocón, de una manera similar a moléculas distribuidas de modo cotraduccional. Un ejemplo es el **citocromo b_5**, que parece entrar en la membrana del ER después de traducción, ayudado por varias chaperonas.

Otras rutas incluyen retención en el GA con recuperación al ER y transporte retrógrado desde el GA

Varias proteínas poseen la secuencia de aminoácidos **KDEL** (Lis-Asp-Glu-Leu) en su carboxilo terminal (cuadro 49-1). Las proteínas que contienen KDEL primero viajan al **GA** en **vesículas cubiertas con proteína de cubierta II (COPII)** (véase más adelante). Este proceso se conoce como **transporte vesicular anterógrado**. En el GA interactúan con una proteína receptora de KDEL específica, que las retiene transitoriamente. A continuación **regresan al ER en vesículas cubiertas con COPI (transporte vesicular retrógrado)**, donde se disocian del receptor y, así, son recuperadas. Las secuencias HDEL (H = histidina) sirven para un propósito similar. Los procesos anteriores dan por resultado localización neta de ciertas proteínas solubles a la luz del ER.

Ciertas otras **proteínas que no contienen KDEL** también pasan al aparato de Golgi y después regresan, mediante transporte vesicular retrógrado, al ER para ser insertadas ahí. Éstas incluyen componentes de vesículas que deben ser reciclados, así como ciertas proteínas de la membrana del ER. Estas proteínas a menudo poseen una señal C terminal situada en el citosol rico en residuos básicos.

De este modo, **diversas rutas** están involucradas en el montaje de las proteínas de las membranas del ER, y probablemente sucede una situación similar para otras membranas (p. ej., las membranas mitocondriales y la membrana plasmática). En algunos casos se han identificado secuencias de direccionamiento precisas (p. ej., secuencias KDEL).

El tema de la biogénesis de membrana se comenta con mayor detalle más adelante en este capítulo.

EL ER FUNCIONA COMO EL COMPARTIMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DE LA CÉLULA

Después de entrar al ER, las proteínas recién sintetizadas intentan plegarse con la asistencia de chaperonas y enzimas de plegamiento, y su estado de plegamiento es vigilado por chaperonas y enzimas (**cuadro 49-6**).

CUADRO 49-6 Algunas chaperonas y enzimas involucradas en el plegamiento que están situadas en el retículo endoplasmático rugoso

- BiP (proteína de unión a cadena pesada de inmunoglobulina)
- GRP94 (proteína regulada por glucosa)
- Calnexina
- Calreticulina
- PDI (proteína disulfuro isomerasa)
- PPI (peptidil prolil *cis-trans* isomerasa)

La chaperona **calnexina** es una proteína de unión a calcio ubicada en la membrana del ER. Esta proteína se une a una amplia variedad de proteínas, entre ellas antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), y diversas proteínas plasmáticas. La calnexina se une a la especie monoglucosilada de glucoproteínas que ocurre durante el procesamiento de glucoproteínas, y las retiene en el ER hasta que la glucoproteína se ha plegado de manera apropiada. La **calreticulina**, que también es una proteína de unión a calcio, tiene propiedades similares a las de la calnexina, pero no está unida a membrana. Además de chaperonas, dos enzimas en la luz del ER se encargan del plegamiento apropiado de proteínas. La **proteína disulfuro isomerasa (PDI)** promueve la **formación rápida** y la reestructuración de enlaces disulfuro hasta que se alcanza el juego correcto. La **peptidil prolil isomerasa (PPI)** acelera el plegamiento de proteínas que contienen prolina al catalizar la isomerización *cis-trans* de enlaces X-Pro, donde X es cualquier residuo de aminoácido.

Las proteínas plegadas de modo erróneo o incompleto interactúan con chaperonas, que las retienen en el ER y evitan que sean exportadas a sus destinos finales. Si esas interacciones continúan durante un período prolongado, las proteínas que muestran plegamiento erróneo por lo general son desechadas mediante **degradación asociada con el retículo endoplasmático (ERAD)**; esto evita una acumulación perjudicial de proteínas mal plegadas. En diversas enfermedades genéticas, como la fibrosis quística, hay retención de proteínas mal plegadas en el ER y, en algunos casos, las proteínas retenidas aún muestran algo de actividad funcional. En la actualidad hay mucho interés por encontrar fármacos que interactuarán con esas proteínas y promoverán su plegamiento correcto y exportación hacia afuera del ER (véase más adelante).

LAS PROTEÍNAS MAL PLEGADAS SUFREN DEGRADACIÓN ASOCIADA CON EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO

El mantenimiento de la **homeostasis en el ER** es importante para la función normal de la célula. La perturbación del ambiente singular dentro de la luz del ER (p. ej., por cambios en el Ca^{2+} del ER, alteraciones del estado de óxido-reducción, exposición a diversas toxinas o a algunos virus) puede llevar a capacidad reducida de plegamiento de proteínas, y la acumulación de proteínas mal plegadas. La acumulación de proteínas mal plegadas en el ER se denomina **estrés del ER**. La célula ha adquirido por evolución un mecanismo denominado la **respuesta a proteína no plegada**

CUADRO 49-7 Algunas enfermedades conformacionales que son causadas por anormalidades del transporte intracelular de proteínas y enzimas específicas debidas a mutaciones[a]

Enfermedad	Proteína afectada
Deficiencia de α_1-antitripsina con enfermedad hepática	α_1-Antitripsina
Síndrome de Chediak-Higashi	Regulador del tráfico lisosomal
Deficiencia combinada de los factores V y VIII	ERGIC53, una lectina de unión a manosa
Fibrosis quística	CFTR
Diabetes mellitus (algunos casos)	Receptor de insulina (subunidad α)
Hipercolesterolemia familiar, autosómica dominante	Receptor de LDL
Enfermedad de Gaucher	β-Glucosidasa
Hemofilias A y B	Factores VIII y IX
Hemocromatosis hereditaria	HFE
Síndrome de Hermansky-Pudlak	Subunidad β3A del complejo adaptador AP-3
Enfermedad de célula I	*N*-acetilglucosamina 1-fosfotransferas
Síndrome oculocerebrorrenal de Lowe	PIP_2 5-fosfatasa
Enfermedad de Tay-Sachs	β-Hexosaminidasa
Enfermedad de Von Willebrand	Factor de Von Willebrand

Abreviatura: PIP_2, fosfatidilinositol 4,5-bifosfato.
[a] Véase Schroder M, Kaufman RJ: The mammalian unfolded protein response. Annu Rev Biochem 2005;74:739 and Olkonnen V, Ikonen E: Genetic defects of intracellular membrane transport. N Eng J Med 2000;343:10095.

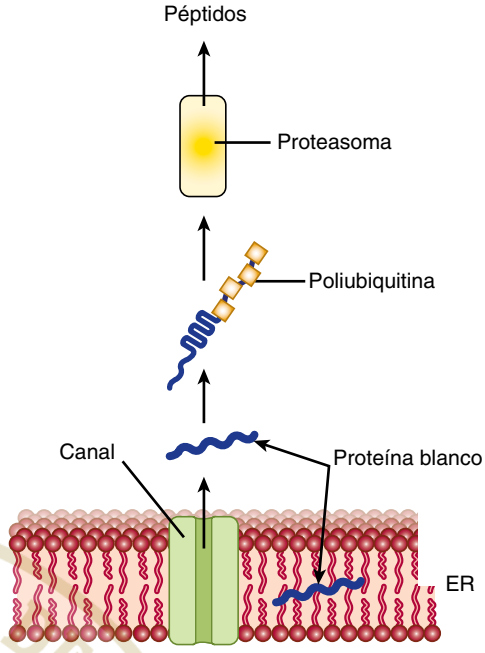


FIGURA 49-10 Esquema simplificado de los eventos en la ERAD. Una proteína blanco que muestra plegamiento erróneo pasa por transporte retrógrado a través de la membrana del ER hacia el citosol, donde queda sujeta a poliubiquitinación. Después de la poliubiquitinación, entra a un proteasoma, dentro del cual es degradada a péptidos pequeños que salen y pueden tener varios destinos. Las moléculas de ubiquitina liberadas son recicladas. Varias proteínas, entre ellas Sec61, Derlin 1 y las ERAD 3 ligasas, Hrd1 y Doa10, son candidatos potenciales a canal de ERAD. Sin embargo, no hay evidencia clara para demostrar que exista un canal y se han propuesto también mecanismos alternativos que comprenden perturbación de la membrana.

(UPR) para detectar las cifras de proteínas mal plegadas e inician mecanismos de señalización para compensar las condiciones de estrés y restituir la homeostasis del ER. La UPR es iniciada por **detectores de estrés del ER**, que son proteínas transmembrana embebidas en la membrana del ER. La activación de estos detectores de estrés causa tres efectos principales: 1) inhibición transitoria de la traducción a fin de disminuir la cantidad de proteínas recién sintetizadas, 2) inducción de una transcripción que lleva a expresión aumentada de chaperonas del ER y 3) síntesis aumentada de proteínas involucradas en la degradación de proteínas en el ER mal plegadas (véase más adelante). Por ende, la UPR aumenta la capacidad de plegamiento en el ER y evita una acumulación de productos proteínicos no productivos y en potencia tóxicos, además de otras respuestas para restituir la homeostasis celular. Empero, si persiste la alteración del plegamiento, se activan vías de muerte celular (apoptosis). Es probable que un entendimiento más completo de la UPR proporcione nuevos métodos para tratar enfermedades en las cuales ocurren estrés del ER y plegamiento defectuoso de proteína (cuadro 49-7).

Las proteínas que se pliegan de modo erróneo en el ER son degradadas por la vía ERAD (**figura 49-10**). Esto ocurre por transporte selectivo de proteínas tanto luminales como de membrana **de regreso a través del ER (retrotranslocación o dislocación)** para entrar en **proteasomas** presentes en el citosol. La energía para la translocación parece ser proporcionada al menos en parte por **p97**, una AAA-ATPasa (una de una familia de **A**TPasas **a**sociadas con diversas **a**ctividades celulares). Todavía no se ha establecido la ruta precisa por la cual las proteínas plegadas de modo erróneo pasan de regreso a través de la membrana del ER. Varios candidatos se han sugerido como posibles canales transmembrana para la ERAD, entre ellos se incluyen Sec61, el complejo que se encarga de la entrada de proteínas al ER, **proteína de degradación en el ER 1 (derlin1)**, y las **ERAD E3 ligasas**, **Hrd1** y **Doa10**. No obstante, si bien parece razonable suponer que las proteínas deben salir del ER por medio de un poro de membrana, hasta ahora no hay evidencia definitiva de que tal canal exista, y es posible que se use un mecanismo por completo diferente. Por ejemplo, se ha sugerido que pueden estar involucrados procesos de perturbación de membrana similares a los que llevan a la formación de gotitas de lípido citosólicas, o causados por la acción de **proteínas romboides**, que regulan la proteólisis intermembrana.

Las **chaperonas** presentes en la luz del ER (p. ej., BiP) y en el citosol ayudan a dirigir proteínas plegadas de modo erróneo a proteasomas. Antes de entrar a proteasomas, casi todas las proteínas son **ubiquitinadas** (véase el párrafo siguiente) y son escoltadas a proteasomas por **proteínas de unión a poliubiquitina**. Las **ubiquitina ligasas** están presentes en la membrana del ER.

La ubiquitina es una molécula clave en la degradación de proteína

Hay dos vías principales de degradación de proteína en eucariontes. Una comprende **proteasas lisosomales** y no requiere ATP, pero la principal vía comprende **ubiquitina** y es dependiente de ATP. La vía de la ubiquitina está asociada en particular con el **desecho de proteínas mal plegadas y enzimas reguladoras que tienen vida media breve**. Se sabe que la ubiquitina está involucrada en diversos procesos fisiológicos importantes, entre ellos la **regulación del ciclo celular** (degradación de ciclinas), **reparación de DNA**, **inflamación y la respuesta inmunitaria** (capítulo 52), **emaciación muscular**, **infecciones virales** y muchos otros. La ubiquitina es una **proteína pequeña** (76 aminoácidos), **altamente conservada**, que desempeña un papel clave en el **marcado** de diversas proteínas para la subsiguiente **degradación en proteasomas**. En la **figura 49-12** se muestra el mecanismo de fijación de la ubiquitina a una proteína blanco (p. ej., una forma mal plegada del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística [CFTR], la proteína involucrada en la causa de la fibrosis quística; capítulo 40), y comprende **tres enzimas**: una **enzima activadora (E1)**, una **enzima conjugadora (E2)** y una **ligasa (E3)**. Hay varios tipos de enzimas conjugadoras y, sorprendentemente, algunos cientos de ligasas diferentes. Es esta última enzima la que confiere especificidad de sustrato. Una vez que la molécula de ubiquitina está fija a la proteína, también se fijan varias otras, lo que da por resultado una **proteína blanco poliubiquitinada**. Se ha estimado que deben fijarse un **mínimo de cuatro moléculas de ubiquitina** para comprometer una molécula blanco a degradación en un proteasoma. La ubiquitina puede **separarse** de la proteína blanco mediante **enzimas** desubiquitinantes, y la ubiquitina liberada puede volver a usarse.

Las proteínas ubiquitinadas son degradadas en proteasomas

Las proteínas blanco poliubiquitinadas entran a los **proteasomas** situados en el citosol. Los proteasomas son complejos de proteína con una **estructura cilíndrica** relativamente **grande,** y están compuestos de cuatro anillos con un **centro** hueco que contiene los sitios activos de proteasa, y una o dos **cubiertas** o **partículas reguladoras** que reconocen los sustratos poliubiquitinados e inician la degradación (**figura 49-11**). Las proteínas blanco son desplegadas por ATPasas presentes en las cubiertas del proteasoma. Los proteasomas pueden hidrolizar una variedad muy amplia de enlaces peptídicos. Las proteínas blanco pasan hacia el centro para ser degradadas a péptidos pequeños, que a continuación salen del proteasoma para ser más degradados por peptidasas citosólicas. Proteínas que muestran plegamiento tanto normal como anormal son sustratos para el proteasoma. Las moléculas de ubiquitina liberadas son recicladas. El proteasoma desempeña un papel importante en la **presentación de péptidos pequeños** producidos por la **degradación de diversos virus** y otras moléculas a **moléculas del MHC clase I**, un paso clave en la presentación de antígeno a linfocitos T.

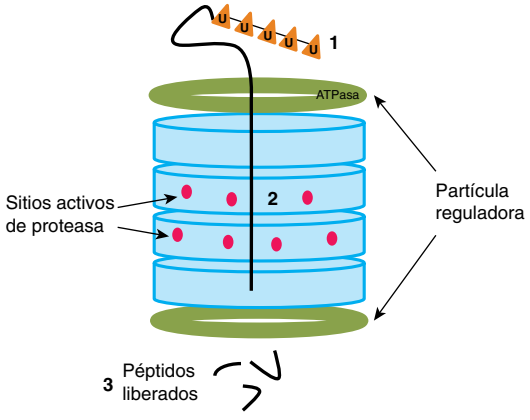


FIGURA 49-11 Degradación de proteína en el proteasoma. 1. La partícula reguladora reconoce las proteínas ubiquitinadas que son desplegadas por ATPasas presentes en las partículas reguladoras o cubiertas. 2. Los sitios activos de proteasa en el centro del proteasoma atacan enlaces peptídicos y degradan la proteína. 3. Los péptidos son liberados hacia el citosol para degradación adicional por peptidasas citosólicas.

LAS VESÍCULAS DE TRANSPORTE SON PARTICIPANTES CLAVE EN EL TRÁFICO DE PROTEÍNA INTRACELULAR

Las proteínas que son sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana, y están destinadas para el GA o la PM, alcanzan estos sitios dentro de **vesículas de transporte.** Hay varios tipos de

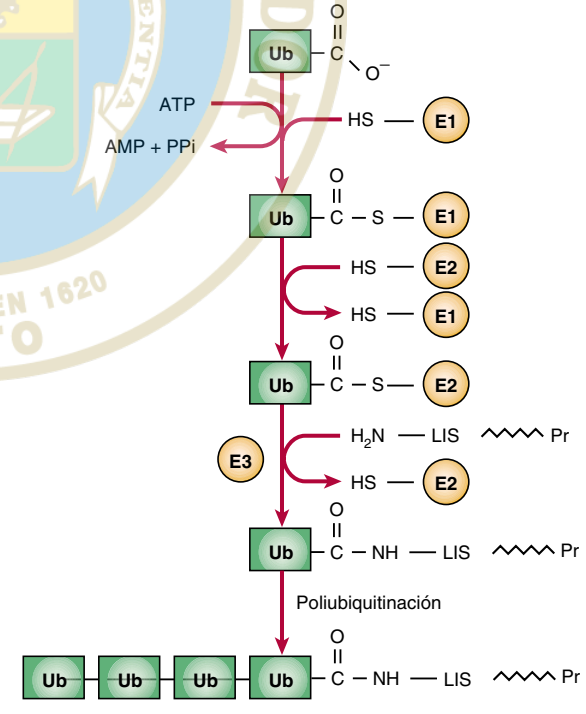


FIGURA 49-12 Secuencia de reacciones además de ubiquitina para una proteína blanco. El grupo COO^- C terminal de la ubiquitina (Ub) es enlazado primero en un enlace tioéster a un grupo SH de la enzima activadora (E1). La ubiquitina activada es transferida a un grupo SH de la enzima conjugadora. A continuación, la transferencia de ubiquitina desde E2 a un grupo ϵ-amino en una lisina de la proteína blanco es catalizada por una enzima ligasa. Posteriormente, rondas adicionales de ubiquitinación construyen la cadena de poliubiquitina. (LIS Pr, proteína blanco).

CUADRO 49-8 Algunos tipos de vesículas y sus funciones

Vesícula	Función
COPI	Involucrada en el transporte intra-GA y el transporte retrógrado desde el GA al ER
COPII	Involucrada en la exportación desde el ER al ERGIC o el GA
Clatrina	Involucrada en el transporte en ubicaciones pos-GA, incluso la PM, la TGN y endosomas
Vesículas secretoras	Involucrada en la secreción regulada desde órganos, como el páncreas (p. ej., secreción de insulina)
Vesículas de la TGN a la PM	Portan proteínas a la PM y están involucradas también en secreción constitutiva

Abreviaturas: ER, retículo endoplasmático; ERGIC, compartimento intermedio ER-GA; GA, aparato de Golgi; PM, membrana plasmática; TGN, red *trans*-Golgi.
Nota: cada vesícula tiene su propio juego de proteínas de cubierta. La clatrina se asocia con diversas proteínas adaptadoras que forman diferentes tipos de vesículas de clatrina que tienen blancos intracelulares diferentes.

vesículas (cuadro 49-8). Quizá queden por descubrirse otros tipos de vesículas.

Cada vesícula tiene su propio juego de proteínas de cubierta. La **clatrina** se usa en vesículas destinadas para exocitosis (véanse las exposiciones sobre el receptor de LDL en los capítulos 25 y 26) y en algunas de las que llevan carga lisosomas. Esta proteína consta de tres espirales que se conectan, que interactúan para formar un entramado alrededor de la vesícula. Sin embargo, COPI y COPII, las vesículas involucradas en el **transporte retrógrado** (desde el GA hacia el ER) y en el **transporte anterógrado** (desde el ER hacia el GA), respectivamente, están libres de clatrina. Las vesículas de transporte y secretoras que llevan carga del GA a la PM también están libres de clatrina. Aquí la exposición se enfoca principalmente en COPII, COPI y vesículas cubiertas con clatrina. Cada tipo tiene un conjunto diferente de proteínas en su cubierta. En aras de la claridad, en este libro las vesículas no cubiertas con clatrina se denominan **vesículas de transporte**. Los principios respecto al montaje de estos tipos diferentes en general son similares, aunque algunos detalles del montaje para COPI y vesículas cubiertas con clatrina difieren de los que se observan para COPII (véase más adelante).

El modelo de vesículas de transporte comprende SNARE y otros factores

Las **vesículas** se encuentran en el centro del transporte intracelular de muchas proteínas. El uso por Schekman y colegas de **métodos genéticos para estudiar** vesículas en levaduras, y el desarrollo por Rothman y colegas de **sistemas libres de células** para estudiar la formación de vesículas, han sido cruciales en el entendimiento de los eventos involucrados en la formación y el transporte de vesículas. Por ejemplo, mediante microscopia electrónica es posible observar gemación de vesículas desde preparaciones de aparato de Golgi incubadas con citosol, ATP y GTP-γ. El mecanismo general es complejo, y comprende diversas proteínas citosólicas y de membrana, GTP, ATP y factores accesorios. La **gemación**, la **fijación**, el **acoplamiento** y la **fusión de membrana** son pasos clave en los ciclos de vida de vesículas; las proteínas de unión a GTP, **Sar1**, **ARF** y **Rab** actúan como **conmutadores moleculares**. Sar1 es la proteína involucrada en el paso 1 de la formación de vesículas COPII, mientras que ARF está involucrada en la formación de vesículas COPI y vesículas cubiertas con clatrina. En el **cuadro 49-9** se muestran las funciones de las diversas proteínas involucradas en el procesamiento de vesículas y las abreviaturas que se usan.

Hay pasos generales comunes en la formación de vesículas de transporte, el direccionamiento de vesículas y la fusión con una membrana blanco, independientemente de la membrana a partir de la cual se forma la vesícula o su destino intracelular. La naturaleza de las proteínas de cubierta, GTPasas y factores direccionadores difiere dependiendo de dónde se forma la vesícula y su destino final. El ejemplo mejor estudiado es el transporte anterógrado desde el ER hacia el aparato de Golgi que comprende vesículas COPII. Puede considerarse que el proceso ocurre en ocho pasos (**figura 49-13**). El concepto básico es que cada vesícula de transporte está cargada con carga específica, y una o más proteínas **v-SNARE** que dirigen el direccionamiento. Cada membrana blanco porta una o más **proteínas t-SNARE complementarias** con las cuales las anteriores interactúan, lo cual media la fusión de vesícula-membrana dependiente de proteína SNARE. Además, las **proteínas Rab** también ayudan a dirigir las vesículas a membranas específicas y su fijación en una membrana blanco.

Paso 1: La **gemación** es iniciada cuando **Sar1** es activada cuando el GTP se une en intercambio por GDP por medio de la acción de **Sec12p** (cuadro 49-9), y la cambia desde una forma soluble a una forma unida a membrana al causar un cambio conformacional que expone una cola hidrofóbica. De este modo,

CUADRO 49-9 Algunos factores involucrados en la formación de vesículas no cubiertas con clatrina y su transporte

- ARF: factor de ribosilación de ADP, una GTPasa involucrada en la formación de vesículas COPI y vesículas cubiertas con clatrina
- Proteínas de cubierta: una familia de proteínas que se encuentran en vesículas cubiertas. Diferentes vesículas de transporte tienen diferentes conjuntos de proteínas de cubierta
- NSF: factor sensible a *N*-etilmaleimida, una ATPasa
- Sar1: una GTPasa que desempeña una función clave en el montaje de vesículas COPI
- Sec12p: un factor de intercambio de nucleótido guanina (GEF) que interconvierte Sar1·GDP y Sar1·GTP
- α-SNAP: proteína de fijación a NSF soluble. Junto con el NSF, esta proteína está involucrada en la disociación de complejos SNARE
- SNARE: receptor de SNAP. Las SNARE son moléculas clave en la fusión de vesículas con membranas aceptora
- t-SNARE: SNARE blanco
- v-SNARE: SNARE vesícula
- Proteínas Rab: una familia de proteínas relacionadas con Ras (GTPasas monoméricas) observada por vez primera en el cerebro de rata. Son activas cuando el GTP está unido. Diferentes moléculas de Rab acoplan diferentes vesículas a membranas aceptoras
- Proteínas efectoras Rab: una familia de proteínas que interactúan con moléculas de Rab; algunas actúan para fijar vesículas a membranas aceptoras

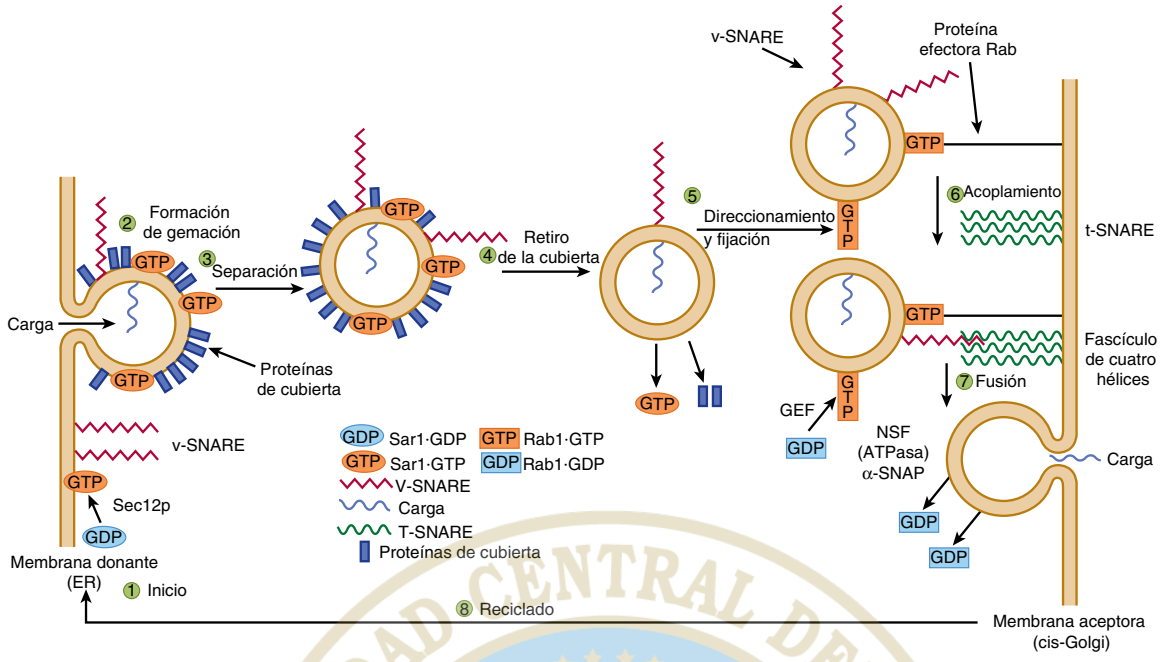


FIGURA 49-13 **Modelo de los pasos en una ronda de transporte anterógrado que comprende vesículas COPII. Paso 1:** Sar1 es activada cuando el GDP es intercambiado por GTP y queda embebida en la membrana del ER para formar un punto focal para la formación de gemación. **Paso 2:** las proteínas de cubierta se unen a Sar1-GTP y las proteínas de carga quedan encerradas dentro de las vesículas. **Paso 3:** el brote se desprende y organiza una vesícula cubierta completa. Las vesículas se mueven por las células a lo largo de microtúbulos o filamentos de actina. **Paso 4:** la cubierta de la vesícula es retirada cuando la Sar1 hidroliza a GDP el GTP unido. **Paso 5:** las moléculas de Rab son unidas a vesículas después de cambio de Rab·GDP a Rab·GTP, un GEF específico (cuadro 49-9). Las proteínas efectoras Rab sobre membranas blanco se unen a Rab·GTP y fijan las vesículas a la membrana blanco. **Paso 6:** las v-SNARE forman pares con t-SNARE cognadas en la membrana blanco para formar un fascículo de cuatro hélices que acopla las vesículas e inicia la fusión. **Paso 7:** cuando las v-SNARE y t-SNARE están estrechamente alineadas, la vesícula se fusiona con la membrana y el contenido es liberado. A continuación, el GTP es hidrolizado a GDP y las moléculas de Rab·GDP son liberadas hacia el citosol. Una ATPasa (NSF) y α-SNAP (cuadro 49-9) disocian el fascículo de cuatro hélices entre las v-SNARE y t-SNARE, de modo que pueden volver a usarse. **Paso 8:** las proteínas Rab y SNARE son recicladas para rondas adicionales de fusión de vesícula. (Adaptado, con autorización, de Rothman JE: Mechanisms of intracellular protein transport. Nature 1994;372:55).

queda embebida en la membrana del ER para formar un punto focal para el montaje de vesículas.

Paso 2: Diversas **proteínas de cubierta** se unen a **Sar1·GTP**. A su vez, las proteínas de carga de membrana se unen a las proteínas de cubierta sea **directamente** o por medio de **proteínas intermediarias** que se fijan a las proteínas de cubierta, y entonces quedan encerradas en sus vesículas apropiadas. Las proteínas de carga solubles se unen a regiones receptoras dentro de las vesículas. Se han identificado varias **secuencias señal** en moléculas de carga (cuadro 49-1). Por ejemplo, las secuencias KDEL dirigen ciertas proteínas residentes en el ER en flujo retrógrado al ER en vesículas COPI. Las secuencias diácidas (p. ej., Asp-X-Glu, X = cualquier aminoácido) y las secuencias hidrofóbicas cortas sobre proteínas de membrana están involucradas en interacciones con proteínas de cubierta en vesículas COPII. No todas las moléculas de carga tienen una señal de distribución. Algunas proteínas secretoras muy abundantes viajan a diversos destinos celulares en vesículas de transporte mediante **flujo de masa**; es decir, entran en vesículas de transporte a la misma concentración que ocurren en el orgánulo. Empero, parece ser que casi todas las proteínas son distribuidas (concentradas) de manera activa hacia vesículas de transporte, y el flujo de masa sólo es usado por un grupo selecto de proteínas de carga. Proteínas de carga adicionales son montadas para **completar la formación de gemación**. Las proteínas de cubierta promueven la gemación, contribuyen a la curvatura de los brotes, y ayudan también a distribuir proteínas.

Paso 3: El **brote se desprende** y completa la formación de la vesícula cubierta. La curvatura de la membrana del ER y las interacciones proteína-proteína y proteína-lípido en el brote facilitan el desprendimiento desde sitios de salida del ER. Las vesículas se mueven a través de las células a lo largo de **microtúbulos** o a lo largo de **filamentos de actina**.

Paso 4: El **desmontaje de cubierta** (que comprende **disociación** de **Sar1** y la vaina de proteínas de cubierta) sigue a la **hidrólisis de GTP unido a GDP** por Sar1, promovida por una proteína de cubierta específica. De este modo, la Sar1 desempeña funciones clave tanto en el montaje como en la disociación de las proteínas de cubierta. El **GTP-γ-S** (un análogo no hidrolizable de GTP, a menudo usado en investigaciones del papel del GTP en procesos bioquímicos) **bloquea el desmontaje de la cubierta** desde vesículas con cubierta; ello conduce a una acumulación de vesículas con cubierta, lo cual facilita su estudio. La **eliminación de la cubierta** es necesaria para que ocurra fusión.

Paso 5: El **direccionamiento de vesícula** se logra mediante fijación de moléculas **Rab** a vesículas. Las Rab son una familia de proteínas tipo Ras que se requieren en varios pasos del transporte de proteína intracelular, y en la secreción y la endocitosis reguladas. Son **GTPasas monoméricas pequeñas** que se fijan a las caras citosólicas de vesículas en gemación en el **estado unido**

a GTP, y están también presentes sobre membranas aceptoras. Las moléculas de Rab·GDP en el citosol son cambiadas a moléculas de Rab·GTP por un GEF específico (cuadro 49-9). **Proteínas efectoras Rab** sobre las membranas blanco se unen a Rab·GTP, pero no a moléculas de Rab·GDP, lo que fija así las vesículas a las membranas.

Paso 6: Las **v-SNARE forman pares con t-SNARE cognadas** en la membrana blanco para **acoplar** las vesículas e iniciar la fusión. En general, una v-SNARE en la vesícula forma pares con tres t-SNARE sobre la molécula aceptora para formar un **fascículo de cuatro hélices** estrecho. En **vesículas sinápticas** una v-SNARE es designada **sinaptobrevina**. La **toxina botulínica B** es una de las toxinas más letales conocidas, y es la causa más grave de intoxicación alimentaria. Un componente de esta toxina es una **proteasa** que se une a la **sinaptobrevina,** lo que **inhibe** así la **liberación de acetilcolina** en la unión neuromuscular, y posiblemente resulta mortal.

Paso 7: La **fusión** de la vesícula con la membrana aceptora ocurre una vez que la v-SNARE y la t-SNARE están estrechamente alineadas. Después de que ocurre fusión de la vesícula y liberación de contenido, el GTP es hidrolizado a GDP, y las moléculas de Rab·GDP son liberadas hacia el citosol. Cuando una SNARE sobre una membrana interactúa con una SNARE sobre otra membrana, con enlace de ambas, esto se denomina un **complejo *trans*-SNARE** o un **alfiler SNARE**. Las interacciones de SNARE sobre la misma membrana forman un **complejo de cis-SNARE**. Para disociar el fascículo de cuatro hélices entre la v-SNARE y t-SNARE de modo que puedan volver a usarse, se requieren dos proteínas adicionales. Éstas son una **ATPasa** (NSF) y **α-SNAP** (cuadro 49-9). El NSF hidroliza ATP, y la energía liberada disocia el fascículo de cuatro hélices, lo cual hace que las proteínas SNARE estén disponibles para otra ronda de fusión de membrana.

Paso 8: Ciertos componentes, como las proteínas Rab y SNARE, son **reciclados** para rondas subsiguientes de fusión de vesícula.

Durante el ciclo anterior, las SNARE, las proteínas de fijación, Rab, y otras proteínas, **colaboran** para suministrar una vesícula y su contenido al sitio apropiado.

Algunas vesículas de transporte viajan por medio de la red *trans*-Golgi

Las proteínas en las áreas **apical** o **basolateral** de las membranas plasmáticas de células epiteliales polarizadas pueden ser transportadas a estos sitios en **vesículas de transporte** que brotan desde la **red *trans*-Golgi**. Diferentes proteínas Rab probablemente dirigen algunas vesículas a regiones apicales, y otras a regiones basolaterales. En ciertas células, las proteínas son dirigidas primero a la membrana basolateral, y después son objeto de endocitosis y son transportadas a través de la célula mediante **transcitosis** a la región apical. Aún otro mecanismo para distribuir proteínas a la región apical (o en algunos casos a la región basolateral) comprende el **ancla glucosilfosfatidilinositol (GPI)** (capítulo 46). Esta estructura a menudo también está presente en **balsas lipídicas** (capítulo 40).

Una vez que las proteínas en la vía secretora alcanzan el *cis*-Golgi desde el ER en vesículas, pueden viajar por medio del GA al *trans*-Golgi **en vesículas**, mediante un proceso llamado **maduración de cisternas**, en el cual las cisternas se mueven y se transforman en otra, o quizás en algunos casos **difusión** por medio de conexiones intracisternales que se han observado en algunos tipos de células. En este modelo, los elementos vesiculares provenientes del ER se fusionan entre sí para ayudar a formar el *cis*-Golgi que, a su vez, puede moverse hacia adelante para convertirse en el aparato de Golgi medial, etc. Las vesículas COPI devuelven enzimas del aparato de Golgi (p. ej., glucosiltransferasas) desde las cisternas distales del GA a cisternas más proximales (p. ej., *cis*).

La brefeldina inhibe la formación de vesículas COPI

El metabolito de hongos **brefeldina A evita que el GTP se una al ARF** y, así, inhibe la formación de vesículas COPI. En su presencia, el aparato de Golgi parece **colapsar hacia el ER**. Puede hacer esto al inhibir el GEF involucrado en la formación de vesículas COPI. De este modo, la brefeldina A ha resultado ser una herramienta útil para examinar algunos aspectos de la estructura y la función del aparato de Golgi.

Algunas proteínas pasan por procesamiento adicional mientras están dentro de vesículas

Algunas proteínas están sujetas a procesamiento adicional **por proteólisis** mientras están dentro de vesículas de transporte o secretoras. Por ejemplo, la **albúmina** es sintetizada por hepatocitos como **preproalbúmina** (capítulo 52). Su péptido señal es eliminado, lo cual la convierte en **proalbúmina**. A su vez, la proalbúmina, mientras está dentro de vesículas secretoras, es convertida en **albúmina** por la acción de la **furina** (**figura 49-14**). Esta enzima separa un hexapéptido desde la proalbúmina en posición inmediatamente C terminal a un sitio aminoácido dibásico

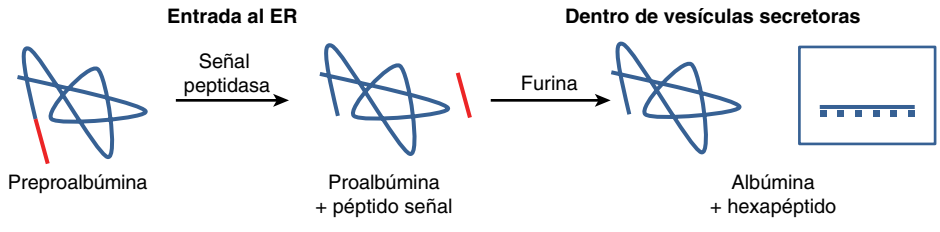


FIGURA 49-14 Procesamiento de preproalbúmina a albúmina. El péptido señal es eliminado de la preproalbúmina conforme se mueve hacia el ER. La furina divide la proalbúmina en el extremo C terminal de un dipéptido básico (ArgArg) mientras la proteína está dentro de la vesícula secretora. La albúmina madura es secretada hacia el plasma.

(ArgArg). La albúmina madura resultante es secretada hacia el plasma. Hormonas como la **insulina** (capítulo 41) quedan sujetas a divisiones proteolíticas similares mientras están dentro de vesículas secretoras.

EL MONTAJE DE MEMBRANAS ES COMPLEJO

Hay varios tipos de membranas celulares, que varían desde la membrana plasmática que separa el contenido de la célula del ambiente externo, hasta las membranas internas de orgánulos subcelulares, como una mitocondria y el ER. Si bien la estructura de bicapa lipídica general es similar en todas las membranas, difieren en su contenido específico de proteína y lípido, y cada tipo tiene sus propias características específicas (capítulo 40). En la actualidad no se dispone de un esquema satisfactorio que describa el montaje de cualquier parte de estas membranas. Ya se comentó el transporte vesicular y la manera en la cual diversas proteínas son insertadas inicialmente en la membrana del ER. A continuación se abordan algunos puntos generales acerca del montaje de membrana.

Durante el montaje de membrana se mantiene asimetría tanto de proteínas como de lípidos

Las vesículas que se forman a partir de membranas del ER y del aparato de Golgi, sea de manera natural o separadas mediante homogenización, muestran **asimetrías transversales** tanto de lípido como de proteína. Estas **asimetrías se mantienen** durante la fusión de vesículas de transporte con la membrana plasmática. El **interior** de las vesículas después de fusión se convierte en el **exterior de la membrana plasmática** y el lado citoplasmático de las vesículas persiste como el lado citoplasmático de la membrana (**figura 49-15**). Los **fosfolípidos** son la principal clase de lípido en las membranas. Las enzimas que se encargan de la síntesis de fosfolípidos residen en la superficie citoplasmática de las cisternas (las estructuras tipo saco) del ER. Conforme se sintetizan fosfolípidos en ese sitio, probablemente se automontan hacia capas bimoleculares termodinámicamente estables, lo que expande la membrana y quizá promueve el desprendimiento de las llamadas **vesículas lipídicas** desde ella. Se ha propuesto que estas vesículas viajan a otros sitios, y donan sus lípidos a otras membranas. Se han demostrado proteínas citosólicas que captan fosfolípidos desde una membrana y los liberan hacia otra (esto es, **proteínas de intercambio de fosfolípido**); probablemente están involucradas en la contribución a la composición lipídica específica de diversas membranas.

Cabe hacer notar que las **composiciones de lípidos** del ER, el aparato de Golgi y la membrana plasmática difieren; las dos últimas membranas contienen **cantidades más altas de colesterol**, **esfingomielina** y **glucoesfingolípidos**, y **menos fosfoglicéridos** que el ER. Los esfingolípidos se empacan más densamente en membranas que los fosfoglicéridos; tales diferencias afectan las estructuras y funciones de las membranas. Por ejemplo, el **grosor de la bicapa** del GA y la PM es mayor que el del ER, lo cual afecta cuáles proteínas transmembrana particulares se encuentran en estos orgánulos. Asimismo, se cree que las **balsas lipídicas** (capítulo 40) se forman en el GA.

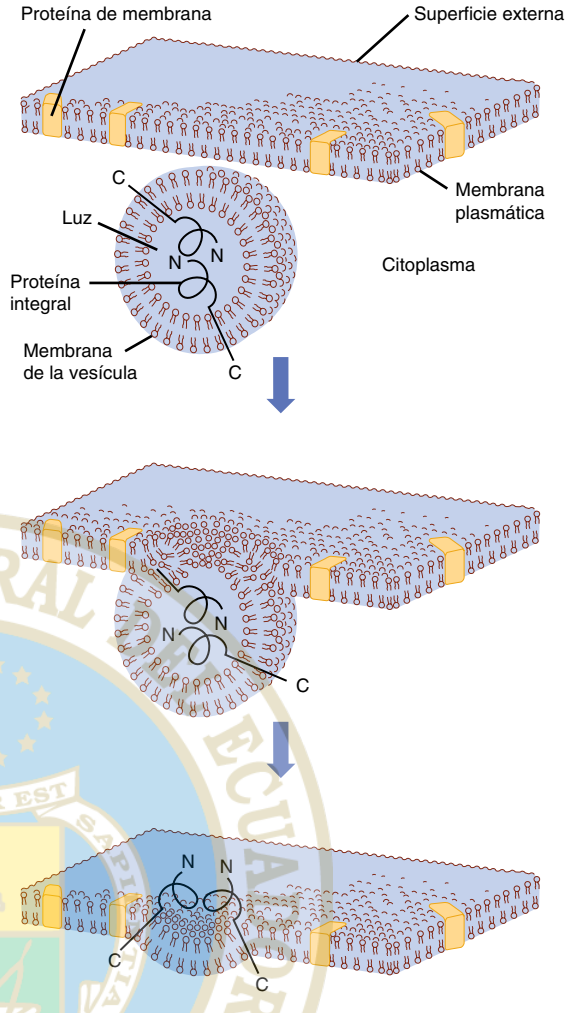


FIGURA 49-15 La fusión de la vesícula con la membrana plasmática preserva la orientación de cualesquier proteínas integrales embebidas en la bicapa de la vesícula. Inicialmente, el amino terminal de la proteína mira hacia la luz (o cavidad interna) de esa vesícula. Después de la fusión, el amino terminal está en la superficie externa de la membrana plasmática. La luz de una vesícula y el exterior de la célula son topológicamente equivalentes. (Redibujado y modificado, con autorización, de Lodish HF, Rothman JE: The assembly of cell membranes. Sci Am [Jan] 1979;240:43).

Los lípidos y las proteínas pasan por recambio a diferentes tasas en diferentes membranas

Se ha mostrado que las vidas medias de los lípidos de las membranas del ER de hígado de rata en general son más cortas que las de sus proteínas, de modo que las **tasas de recambio de lípidos y proteínas son independientes**; de hecho, se ha encontrado que diferentes lípidos tienen diferentes vidas medias. Además, las vidas medias de las proteínas de estas membranas varían ampliamente; algunas muestran vidas medias breves (de horas), y otras, vidas medias prolongadas (de días). De este modo, lípidos y proteínas individuales de las membranas del ER parecen ser insertados en ellas de manera relativamente independiente, y se cree que sucede así para muchas otras membranas.

De este modo, la biogénesis de membranas es un proceso complejo acerca del cual queda mucho por aprender. Una indicación de la complejidad involucrada es considerar el número de

CUADRO 49-10 Algunas características del montaje de membrana

- Los lípidos y las proteínas son insertados de manera independiente en membranas
- Los lípidos y las proteínas de membrana individuales se recambian de manera independiente y a diferentes tasas
- Las secuencias topogénicas (p. ej., señal [amino terminal o interna] y de paro de transferencia) son importantes en la determinación de la inserción y del desecho de proteínas en membranas
- Las proteínas de membrana dentro de las vesículas de transporte salen del retículo endoplasmático en su camino al aparato de Golgi; la distribución final de muchas proteínas de membrana ocurre en la red *trans*-Golgi
- Secuencias de distribución específicas guían proteínas a orgánulos particulares, como lisosomas, peroxisomas y mitocondrias

modificaciones postraduccionales a las cuales las proteínas de la membrana pueden quedar sujetas antes de alcanzar su estado inmaduro. Éstas incluyen formación de disulfuro, proteólisis, montaje hacia multímeros, glucosilación, adición de un ancla de glucofosfatidilinositol (GPI), sulfación en porciones de tirosina o carbohidrato, fosforilación, acilación y prenilación (esta lista no es exhaustiva). No obstante, se ha logrado progreso importante; en el **cuadro 49-10** se resumen algunas de las principales características del montaje de membrana que han surgido hasta la fecha.

Diversos trastornos se originan por mutaciones en genes que codifican para proteínas involucradas en el transporte intracelular

Algunos trastornos que reflejan función **peroxisomal** anormal, anormalidades de la síntesis de proteína en el **ER** y de la síntesis de **proteínas lisosomales** se listaron antes en este capítulo (cuadros 49-4 y 49-7, respectivamente). Se han reportado muchas otras mutaciones que afectan el plegamiento de proteínas y su transporte intracelular a diversos orgánulos, incluso trastornos neurodegenerativos, como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, y enfermedad de Parkinson. La elucidación de las causas de estos diversos trastornos conformacionales ha contribuido significativamente al entendimiento de la **patología molecular**. El término **"enfermedades de deficiencia de proteostasis"** también se ha aplicado a enfermedades debidas a plegamiento erróneo de proteínas. La proteostasis es una palabra compuesta derivada de homeostasis de proteína. La proteostasis normal se debe a un equilibrio de muchos factores, como síntesis, plegamiento, tráfico, agregación y degradación normal. Si cualquiera de éstos es alterado (p. ej., por mutación, envejecimiento, estrés celular, o lesión), pueden ocurrir diversos trastornos, dependiendo de las proteínas particulares afectadas.

Las terapias potenciales para las diversas enfermedades causadas por disfunción de proteína debida a plegamiento erróneo se dirigen a corregir los errores conformacionales. Un método promisorio es emplear chaperonas como Hsp70 para promover el plegamiento apropiado. Además, se ha mostrado que el antibiótico geldanamicina activa proteínas de choque por calor. También se ha mostrado que moléculas de fármaco pequeñas que actúan como chaperonas químicas evitan el plegamiento erróneo y restituyen la función de proteínas. Sin embargo, estos métodos hasta ahora no se han probado en experimentos en animales ni en sistemas *in vitro,* y queda por establecer su eficacia en humanos.

RESUMEN

- Muchas proteínas son dirigidas a sus destinos mediante secuencias señal. Una importante decisión en cuanto a distribución se toma cuando las proteínas son divididas entre polirribosomas citosólicos (o libres) y unidos a membrana, en virtud de la ausencia o presencia de un péptido señal N terminal.
- Las proteínas sintetizadas en polirribosomas citosólicos son direccionadas mediante secuencias señal específicas a mitocondrias, núcleos, peroxisomas y el retículo endoplasmático. Las proteínas que carecen de una señal permanecen en el citosol.
- Las proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana inicialmente entran a la membrana o la luz del ER y muchas son destinadas finalmente para otras membranas, incluso la PM y la del GA, para lisosomas, y para secreción por medio de exocitosis mediante transporte desde el ER → GA → PM en vesículas de transporte.
- Muchas reacciones de glucosilación ocurren en compartimentos del aparato de Golgi y las proteínas son más distribuidas en la red *trans*-Golgi.
- Las chaperonas moleculares estabilizan proteínas no plegadas o parcialmente plegadas. Las chaperonas se requieren para el direccionamiento correcto de proteínas a sus ubicaciones subcelulares.
- En la translocación postraduccional, las proteínas son transportadas hacia sus órganos blanco después de que se completa su síntesis. Las proteínas destinadas para mitocondrias, el núcleo y peroxisomas, siguen esta ruta, así como una minoría de proteínas dirigidas al ER.
- Casi todas las proteínas entran a la luz del ER mediante la vía cotraduccional, donde ocurre translocación durante síntesis de proteína en proceso.
- Las proteínas embebidas en la membrana del ER pueden insertarse de manera cotraduccional, postraduccional o después de transporte al GA (transporte anterógrado), retención transitoria y regreso al ER (transporte retrógrado).
- La acumulación perjudicial de proteínas que muestran plegamiento erróneo desencadena la respuesta de proteína sin plegamiento, y son degradadas mediante la vía ERAD. Las proteínas son marcadas para degradación mediante la adición de diversas moléculas de ubiquitina y después entran al citosol donde son desintegradas en proteasomas.
- Diferentes tipos de vesículas de transporte están cubiertos con diferentes proteínas. Las vesículas cubiertas con clatrina están destinadas para exocitosis y lisosomas, mientras que las proteínas de cubierta I y II están asociadas con vesículas COPI y COPII, que se encargan del transporte retrógrado y anterógrado, respectivamente.
- El procesamiento de vesícula de transporte es complejo y requiere muchos factores proteínicos. La gemación desde la membrana donante va seguida por movimiento por el citosol, fijación, acoplamiento y fusión con la membrana blanco.
- Ciertas proteínas (p. ej., precursores de albúmina e insulina) quedan sujetas a proteólisis mientras están dentro de vesículas de transporte, lo que produce las proteínas maduras.
- Las GTPasas pequeñas (p. ej., Ran, Rab) y los GEF desempeñan funciones clave en muchos aspectos del tráfico intracelular.

- Las vesículas que se forman a partir de membranas del ER y del aparato de Golgi son asimétricas en cuanto a contenido de lípido y proteína. La asimetría se mantiene durante la fusión de vesículas de transporte con la membrana plasmática, de modo que el interior de las vesículas después de fusión se convierte en el exterior de la membrana plasmática, y el lado citoplasmático de las vesículas permanece mirando al citosol.
- Durante el montaje de membrana se mantiene la asimetría tanto de lípidos como de proteínas. Los lípidos y las proteínas son insertados independientemente, y se recambian a ritmos diferentes. Quedan por establecer los detalles del proceso de montaje complejo.
- Se ha mostrado que muchos trastornos se deben a mutaciones en genes, o a otros factores que afectan el plegamiento de diversas proteínas. Estas enfermedades se han denominado enfermedades conformacionales o, de manera alternativa, enfermedades de deficiencia proteostática. Los métodos terapéuticos promisorios incluyen el uso de chaperonas, como Hsp70, y moléculas pequeñas que pueden evitar el plegamiento erróneo y restituir la función de la proteína.

REFERENCIAS

Alberts B, Johnson A, Lewis J, *et al*: *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed. Garland Science, 2008. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafficking and sorting).

Alder NN, Johnson AE: Cotranslational membrane protein biogenesis at the endoplasmic reticulum. J Biol Chem 2004;279:22787.

Bonifacino JS, Glick BS: The mechanisms of vesicle budding and fusion. Cell 2004;116:153.

Chaudhuri TK, Paul S: Protein misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. FEBS J 2006;273:1331.

Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates, Inc. 2009. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafficking and sorting).

Hampton RY, Sommer T: Finding the will and the way of ERAD substrate retrotranslocation. Curr Opin Cell Biol 2012;24:460.

Hebert DN, Molinari M: In and out of the ER: protein folding, quality control, degradation and related human diseases. Physiol Rev 2007;87:1377.

Lai E, Teodoro T, Volchuk A: Endoplasmic reticulum stress: signaling the unfolded protein response. Physiology 2007;22:193.

Neupert W, Herrmann JM: Translocation of proteins into mitochondria. Annu Rev Biochem 2007;76:723.

Platta HW, Erdmann R: The peroxisomal protein import machinery. FEBS Lett 2007;581;2811.

Stewart M: Molecular mechanisms of the nuclear protein import cycle. Nature Rev Mol Cell Biol 2007;8:195.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 50

La matriz extracelular

Kathleen M. Botham, PhD, DSc & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar la importancia de la matriz extracelular (ECM) y sus componentes en la salud y la enfermedad.
- Describir las propiedades estructurales y funcionales del colágeno y la elastina, las principales proteínas de la ECM.
- Indicar las principales características de la fibrilina, fibronectina y laminina, otras proteínas importantes de la ECM.
- Describir las propiedades y las características generales de la síntesis y degradación de glucosaminoglucanos y proteoglucanos, así como sus contribuciones a la ECM.
- Describir brevemente las principales características bioquímicas del hueso y el cartílago.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Casi todas las células de mamífero están situadas en tejidos donde están rodeadas por una **ECM** compleja a menudo denominada **"tejido conjuntivo"**, que protege los órganos y proporciona también elasticidad donde se requiere (p. ej., los vasos sanguíneos, los pulmones y la piel). La ECM contiene tres clases principales de biomoléculas: **proteínas estructurales (1)**, por ejemplo, **colágeno, elastina** y **fibrilina**, ciertas **proteínas especializadas (2)** como la **fibronectina** y la **laminina**, que forman una red de fibras que están embebidas en **proteoglucanos (3)**. Se ha encontrado que la ECM está involucrada en muchos procesos normales y patológicos (p. ej., desempeña funciones importantes en el desarrollo, en estados inflamatorios y en la diseminación de células cancerosas). Se ha documentado afección de ciertos componentes de la ECM tanto en la **artritis reumatoide** como en la **osteoartritis**. Varias enfermedades (p. ej., osteogénesis imperfecta y varios tipos de síndrome de Ehlers-Danlos) se deben a alteraciones genéticas de la síntesis de colágeno. Componentes específicos de proteoglucanos (los glucosaminoglucanos; GAG) están afectados en el grupo de trastornos genéticos conocidos como las **mucopolisacaridosis**. Durante el **proceso de envejecimiento** ocurren cambios en la ECM. En este capítulo se describen los aspectos bioquímicos básicos de las tres clases principales de biomoléculas que se encuentran en la ECM, y se ilustra su importancia biomédica. También se consideran brevemente las principales características bioquímicas de dos formas especializadas de ECM (hueso y cartílago) y de varias enfermedades que las afectan.

EL COLÁGENO ES LA PROTEÍNA MÁS ABUNDANTE EN EL MUNDO ANIMAL

El **colágeno**, el principal componente de casi todos los tejidos conjuntivos, constituye alrededor de 25% de la proteína de mamíferos. Proporciona un armazón extracelular para todos los animales metazoos y existe en casi todos los tejidos animales. En tejidos humanos se han identificado al menos 28 tipos de colágeno constituidos de más de 30 cadenas polipeptídicas distintas (cada una codificada por un gen separado) (**cuadro 50-1**). Si bien varios de éstos sólo están presentes en proporciones pequeñas, pueden desempeñar papeles importantes en la determinación de las propiedades físicas de tejidos específicos. Además, varias proteínas (p. ej., el componente C1q del sistema de complemento, proteínas surfactantes pulmonares SPA y SPD) que no están clasificadas como colágenos tienen dominios tipo colágeno en sus estructuras; estas proteínas a veces se denominan "colágenos no colágeno".

LOS COLÁGENOS TIENEN UNA ESTRUCTURA DE TRIPLE HÉLICE

Todos los tipos de colágeno tienen una **estructura de triple hélice**. En algunos colágenos, toda la molécula es una triple hélice, mientras que en otros la triple hélice puede comprender sólo una fracción de la estructura. El **colágeno tipo I** maduro, que contiene aproximadamente 1 000 aminoácidos, pertenece al primer tipo; en él, cada subunidad polipeptídica o cadena α se tuerce

CUADRO 50-1 Tipos de colágeno y su distribución en los tejidos

Tipo	Distribución	Tipo	Distribución
I	Tejidos conjuntivos no cartilaginosos, incluso hueso, tendón, piel	XV	Asociado con colágenos cerca de membranas basales en muchos tejidos, incluso en el ojo, el músculo, microvasos
II	Cartílago, humor vítreo	XVI	Muchos tejidos
III	Tejidos conjuntivos extensibles, incluso piel, pulmón, sistema vascular	XVII	Epitelios, hemidesmosomas de la piel
IV	Membranas basales	XVIII	Asociado con colágenos cerca de membranas basales, homólogo estructural cercano de XV
V	Componente menor en tejidos que contienen colágeno I	XIX	Raro, membranas basales, células de rabdomiosarcoma
VI	Músculo y casi todos los tejidos conjuntivos	XX	Muchos tejidos, en particular el epitelio corneal
VII	Unión dermoepidérmica	XXI	Muchos tejidos
VIII	Endotelio y otros tejidos	XXII	Uniones de tejido, incluso cartílago guión líquido sinovial, folículo piloso-dermis
IX	Tejidos que contienen colágeno II	XXIII	Limitado en tejidos, principalmente formas transmembrana y desprendidas
X	Cartílago hipertrófico	XXIV	Córnea y hueso en desarrollo
XI	Tejidos que contienen colágeno II	XXV	Cerebro
XII	Tejidos que contienen colágeno I	XXVI	Testículo, ovario
XIII	Muchos tejidos, incluso uniones neuromusculares y piel	XXVII	Cartílago embrionario y otros tejidos en desarrollo, cartílago en adultos
XIV	Tejidos que contienen colágeno I	XXVIII	Membrana basal alrededor de células de Schwann

para formar una hélice de poliprolina siniestra de 13 residuos por cada vuelta. Tres de estas cadenas α a continuación se enrollan y forman una **superhélice diestra**, lo que forma una molécula tipo bastón de 1.4 nm de diámetro y alrededor de 300 nm de largo (**figura 50-1**). Una característica notoria del colágeno es la presencia de residuos de **glicina** en cada tercera posición de la porción de triple hélice de la cadena α. Esto es necesario porque la glicina es el único aminoácido lo bastante pequeño como para que quepa en el espacio limitado disponible en la porción central de la triple hélice. Esta **estructura repetitiva**, representada como (Gli-X-Y)*n*, es un requerimiento absoluto para la formación de la triple hélice. Si bien X e Y pueden ser cualesquier otros aminoácidos, alrededor de 100 de las posiciones X son prolina, y aproximadamente 100 de las posiciones Y son hidroxiprolina. La prolina y la hidroxiprolina confieren **rigidez** a la molécula de colágeno. La **hidroxiprolina** se forma por la hidroxilación postraduccional de residuos de prolina unidos a péptido por la enzima **prolil hidroxilasa**, cuyos cofactores son **ácido ascórbico** (vitamina C) y α-cetoglutarato. Las lisinas en la posición Y también pueden ser objeto de modificación postraduccional a hidroxilisina por medio de la acción de la **lisil hidroxilasa**, una enzima con cofactores similares. Algunas de estas hidroxilisinas pueden modificarse más por la adición de galactosa o galactosil-glucosa por medio de un **enlace *O*-glucosídico** (capítulo 46), un sitio de glucosilación que es singular para el colágeno.

Los tipos de colágeno que forman fibras tipo bastón largas en tejidos se montan por asociación lateral de estas unidades de triple hélice hacia **fibrillas** (de 10 a 300 nm de diámetro) en una **alineación "escalonada un cuarto de su longitud"** de modo que cada una es desplazada longitudinalmente desde su vecina poco menos de una cuarta parte de su longitud (figura 50-1). Las fibrillas, a su vez, se asocian hacia fibras más gruesas (de 1 a 20 μm de diámetro). Puesto que la alineación escalonada un cuarto de su longitud da por resultado brechas regularmente espaciadas entre las moléculas de triple hélice en la disposición, las fibras tienen un aspecto en banda en tejidos conjuntivos. En algunos tejidos, por ejemplo los tendones, las fibras se asocian para formar fascículos aún más grandes, que pueden tener un diámetro de hasta 500 ml. Las fibras de colágeno se estabilizan más por la formación de **enlaces covalentes**, tanto dentro de las unidades de triple hélice como entre las mismas. Estos enlaces covalentes se forman por medio de la acción de la lisil oxidasa, una enzima dependiente de cobre que produce desaminación oxidativa de los grupos ε-amino de ciertos residuos de lisina e hidroxilisina, lo que da aldehídos reactivos. Esos aldehídos pueden formar productos de condensación de aldol con otros aldehídos derivados de lisina o de hidroxiprolina para formar bases de Schiff con los grupos ε-amino de lisinas o hidroxilisinas no oxidadas. Estas reacciones, después de reordenamientos químicos adicionales, dan por resultado los enlaces covalentes estables que son importantes para la resistencia a la tracción de las fibras. La histidina también puede quedar involucrada en ciertos enlaces covalentes.

Los principales colágenos formadores de fibrillas en la piel y el hueso, y en el cartílago, respectivamente, son los tipos **I** y **II**, aunque otros colágenos también adoptan esta estructura. Sin embargo, además hay muchos colágenos no formadores de fibrillas, y sus estructuras y funciones se describen brevemente en la sección que sigue.

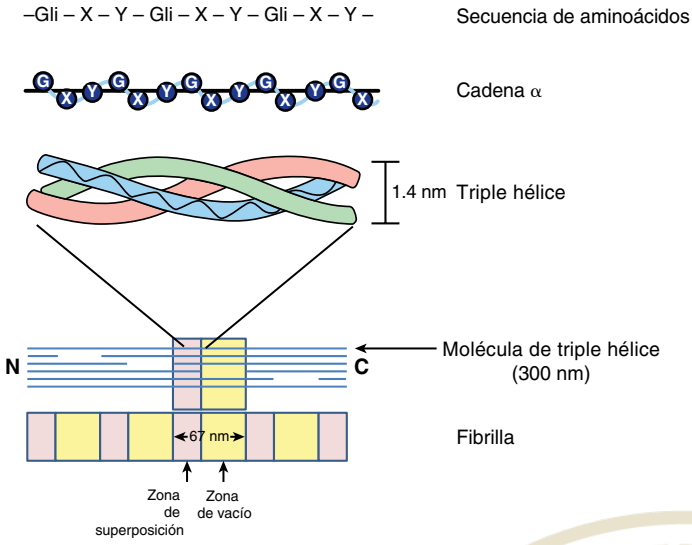


FIGURA 50-1 Características moleculares de la estructura del colágeno a partir de la secuencia primaria de la fibrilla. Cada cadena polipeptídica individual está torcida hacia una hélice siniestra de tres residuos (Gli-X-Y) por cada giro, y tres de estas cadenas a continuación se enrollan y forman una superhélice diestra. Posteriormente, las triples hélices son montadas hacia una alineación escalonada un cuarto de su longitud para formar fibrillas. Esta disposición lleva a áreas donde hay superposición completa de las moléculas, que alternan con áreas donde hay un vacío, que da a las fibrillas un aspecto con bandas regulares. (Modificado ligeramente y reproducido, con autorización, de Eyre DR: Collagen: molecular diversity in the body's protein scaffold. Science 1980;207:1315. Reimpreso con autorización de AAAS).

Algunos tipos de colágeno no forman fibrillas

Varios tipos de colágeno no forman fibrillas en los tejidos (**figura 50-2**). Se caracterizan por interrupciones de la triple hélice con tramos de proteína que carecen de secuencias de repetición Gli-X-Y. Estas secuencias no Gli-X-Y dan lugar a áreas de estructura globular intercaladas en la estructura de triple hélice. Los **colágenos tipo red**, como el tipo IV, forman redes en membranas basales; los **colágenos asociados con fibrillas, con triples hélices interrumpidas** (**FACIT**), como su nombre lo indica, tienen interrupciones en los dominios de triple hélice; los filamentos arrosariados constan de cadenas largas de moléculas de colágeno que tienen un aspecto arrosariado regular; el colágeno VII forma la principal parte de las **fibrillas de anclaje** en tejidos epiteliales; los **colágenos transmembrana** tienen dominios *N*-terminal intracelulares cortos, y dominios extracelulares con triples hélices interrumpidas largas; las **multiplexinas** son colágenos con múltiples dominios de triple hélice e interrupciones.

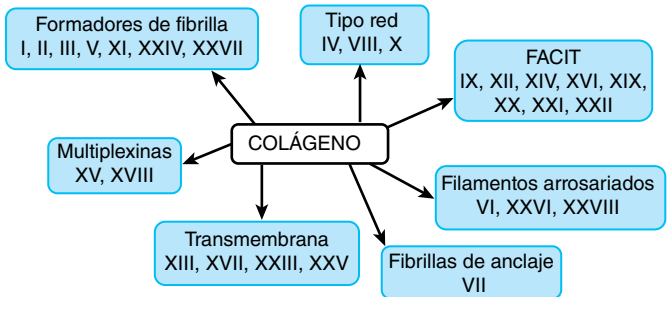


FIGURA 50-2 Clasificación de los colágenos de acuerdo con las estructuras que forman. FACIT, colágeno asociado con fibrilla, con triples hélices interrumpidas; multiplexina, múltiples dominios de triple hélice e interrupciones.

El colágeno pasa por modificaciones postraduccionales extensas

El colágeno recién sintetizado pasa por **modificación postraduccional** extensa antes de hacerse parte de una fibra de colágeno extracelular madura (**cuadro 50-2**). Al igual que casi todas las proteínas secretadas, el colágeno es sintetizado en ribosomas en una forma precursora, el **preprocolágeno**, que contiene una secuencia líder o señal que dirige la cadena polipeptídica hacia la luz del retículo endoplasmático. Conforme entra en el retículo endoplasmático, esta secuencia líder es eliminada enzimáticamente. En este sitio también tienen lugar la **hidroxilación** de residuos de prolina y lisina, y la **glucosilación** de hidroxilisinas en la molécula de **procolágeno**. La molécula de procolágeno contiene extensiones polipeptídicas **(péptidos de extensión)** de 20 a 35 kDa en sus extremos tanto amino como carboxilo terminales, ninguno de los cuales está presente en el colágeno maduro. Ambos péptidos de extensión contienen residuos de cisteína. Si bien el propéptido amino terminal sólo forma enlaces disulfuro intracadena, los propéptidos carboxilo terminal forman enlaces disulfuro tanto intracadena como intercadena. La formación de estos enlaces disulfuro ayuda en el **registro** de las tres moléculas de colágeno para formar la triple hélice, con enrollamiento desde el extremo carboxilo terminal. Después de la formación de la triple hélice, no puede tener lugar más hidroxilación de prolina o lisina, o glucosilación de hidroxilisinas. El **automontaje** es un principio fundamental en la biosíntesis de colágeno.

Después de **secreción** desde la célula por medio del aparato de Golgi, enzimas extracelulares llamadas **procolágeno aminoproteinasa** y **procolágeno carboxiproteinasa** eliminan los péptidos de extensión en los extremos amino y carboxilo terminales, res-

CUADRO 50-2 Orden y ubicación del procesamiento del precursor de colágeno fibrilar

Intracelular
1. División de péptido señal
2. Hidroxilación de residuos de prolil y algunos residuos de lisil; glucosilación de algunos residuos de hidroxilisil
3. Formación de enlaces S−S intracadena e intercadena en péptidos de extensión
4. Formación de triple hélice
Extracelular
1. División de propéptidos amino y carboxilo terminal
2. Montaje de fibras de colágeno en alineación escalonada un cuarto de su longitud
3. Desaminación oxidativa de grupos ε-amino de residuos de lisil y de hidroxilisil a aldehídos
4. Formación de enlaces covalentes intracadena e intercadena por medio de bases de Schiff y productos de condensación de aldol

pectivamente, lo que forma las unidades monoméricas de colágeno, llamadas **tropocolágeno**. La separación de los propéptidos tal vez ocurra dentro de criptas o pliegues en la membrana celular. Una vez que los propéptidos son eliminados, las moléculas de tropocolágeno, que contienen unos 1 000 aminoácidos por cada cadena, se **montan espontáneamente** hacia fibras de colágeno, las cuales son más estabilizadas por la formación de **enlaces covalentes intercadena e intracadena** mediante la acción de la lisil oxidasa, como se describió.

Las mismas células que secretan colágeno también secretan **fibronectina**, una glucoproteína grande presente en superficies celulares, en la matriz extracelular, y en la sangre (véase más adelante). La fibronectina se une a las fibras de colágeno durante la agregación y altera la cinética de la formación de fibra en la matriz pericelular. Asociados con fibronectina y procolágeno en esta matriz están los **proteoglucanos** heparán sulfato y condroitín sulfato (véase más adelante). De hecho, el **colágeno tipo IX**, un tipo de colágeno menor del cartílago, contiene una cadena de glucosaminoglucano unida. Esas interacciones pueden servir para regular la formación de fibras de colágeno y para determinar su orientación en los tejidos.

Una vez formado, el colágeno es relativamente **estable desde el punto de vista metabólico**. Empero, su desintegración aumenta durante la inanición y diversos estados inflamatorios. En varias enfermedades, ocurre producción excesiva de colágeno, por ejemplo, en la cirrosis hepática.

Varias enfermedades genéticas y por deficiencia se producen por anormalidades en la síntesis de colágeno

Más de 30 genes codifican para los colágenos, y se designan de acuerdo con el tipo de procolágeno y sus cadenas α constituyentes, llamadas cadenas proα. Los colágenos pueden ser homotriméricos, que contienen tres cadenas proα idénticas, o heterotriméricos, en los cuales las cadenas proα son diferentes. Por ejemplo, el colágeno tipo I es heterotrimérico; contiene dos cadenas proα1(I) y una cadena proα2(I) (los números arábigos se refieren a la cadena proα, y el número romano entre paréntesis indica el tipo de colágeno), mientras que el colágeno tipo II es homotrimérico al tener tres cadenas proα1(II). Los genes que codifican para el colágeno tienen el prefijo *COL* seguido por el tipo en números arábigos, a continuación una A y el número de la cadena proα que codifican. De este modo, *COL1A1* y *COL1A2* son los genes que codifican para las cadenas proα1 y 2 del colágeno tipo I, *COL2A1* es el gen que codifica para la cadena proα1 del colágeno tipo II y así sucesivamente.

La vía de la biosíntesis de colágeno es compleja; involucra al menos ocho pasos postraduccionales catalizados por enzima. De este modo, no sorprende que varias enfermedades (**cuadro 50-3**) se deban a **mutaciones en genes que codifican para colágeno,** o en **genes que codifican para algunas de las enzimas** involucradas en estas modificaciones postraduccionales. Las enfermedades que afectan el hueso (p. ej., osteogénesis imperfecta) y el cartílago (p. ej., las condrodisplasias) se comentan más adelante en este capítulo.

El **síndrome de Ehlers-Danlos** (antes llamado cutis hiperelástica), comprende un grupo de trastornos hereditarios cuyas principales características clínicas son hiperextensibilidad de la piel, fragilidad tisular anormal, y movilidad articular aumentada. El cuadro clínico es variable, lo que refleja extensa heterogeneidad genética subyacente. Se conocen varias formas de la enfermedad causadas por defectos genéticos en proteínas involucradas en la síntesis y el montaje de colágenos tipo I, III y V, y desde 1997 se ha usado la clasificación de Villefranche de seis subtipos con base en su fenotipo y en sus defectos moleculares (**cuadro 50-4**). Los subtipos con **hipermovilidad**, **vascular** y **clásico** son más comunes, mientras que los otros 3, **cifoescoliosis**, **artrocalasia** y **dermatosparaxis** son en extremo raros. El subtipo vascular es el más grave debido a su tendencia a rotura espontánea de arterias o del intestino, lo que refleja anormalidades del colágeno tipo III. Los pacientes con cifoescoliosis muestran curvatura progresiva de la columna vertebral (escoliosis), y una tendencia a rotura ocular debido a una deficiencia de lisil hidroxilasa. Una deficiencia de procolágeno *N*-proteinasa (metaloproteinasa ADAM con motivo de trombospondina tipo I [*ADAMTS2*]), que causa formación de fibrillas de colágeno irregulares, delgadas, anormales, da por resultado dermatosparaxis, que se manifiesta por piel frágil y flácida notoria.

CUADRO 50-3 Enfermedades causadas por mutaciones en genes que codifican para colágeno, o por deficiencias en las actividades de enzimas involucradas en la biosíntesis postraduccional de colágeno

Gen o enzima afectado	Enfermedad[a]
COL1A1, COL1A2	Osteogénesis imperfecta tipo 1[b] Osteoporosis Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo artrocalasia
COL2A1	Condrodisplasia grave Osteoartritis
COL3A1	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo vascular
COL4A3-COL4A6	Síndrome de Alport (autosómico y ligado a X)
COL7A1	Epidermólisis ampollar (bulosa), distrófica
COL10A1	Condrodisplasia metafisaria de Schmid
COL5A1, COL5A2, COL1A1	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo clásico
COL3A1, tenascina XB *(TNXB)*	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo hipermovilidad
Lisil hidroxilasa	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo cifoescoliosis
Metaloproteinasa ADAM con motivo de trombospondina tipo 1 *(ADAMTS2)* (también llamada procolágeno *N*-proteinasa)	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo dermatosparaxis
Lisil hidroxilasa	Enfermedad de Menkes[c]

[a] Se ha mostrado enlace genético con genes que codifican para colágeno para algunas otras enfermedades no listadas aquí.
[b] Se reconocen ocho tipos de osteogénesis imperfecta, pero la mayor parte de los casos se origina por mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*.
[c] Secundaria a una deficiencia de cobre (capítulo 52).

CUADRO 50-4 La clasificación de Villefranche[a] de subtipos de síndrome de Ehlers-Danlos

Nombre del subtipo	Defecto en	Incidencia	Signos clínicos
Hipermovilidad	Colágeno tipo III, tenascina X[b]	1:10 000 a 15 000	Hipermovilidad articular, anormalidades cutáneas, osteoartritis, dolor intenso
Clásico	Colágeno tipos I y V	1:20 000 a 30 000	Similar al subtipo hipermovilidad, pero con anormalidades cutáneas más graves y cambios articulares menos graves
Vascular	Colágeno tipo III	1:100 000	Vasos sanguíneos y órganos frágiles, estatura baja, piel delgada y translúcida, formación fácil de equimosis
Cifoescoliosis	Lisil hidroxilasa	< 60 casos	Curvatura de la columna vertebral (escoliosis), debilidad muscular grave, ojos frágiles, piel hiperextensible y con formación fácil de equimosis
Artrocalasia	Colágeno tipo I	< 40 casos	Articulaciones muy laxas, y luxación de ambas caderas
Dermatosparaxis	Metalopeptidasa ADAM con motivo de trombospondina tipo I (ADAMTS2)[c]	< 10 casos	Piel muy frágil y flácida

[a] Beighton P, De Paepe A, Steinmann B, *et al*: Ehlers-Danlos syndromes: revised nosology, Villefranche, Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK). Am J Med Genet 1998;64:31-37.
[b] Una glucoproteína expresada en tejidos conjuntivos, como la piel, las articulaciones y los músculos.
[c] También llamada procolágeno *N*-proteinasa.

El **síndrome de Alport** (nefritis hereditaria) es la designación aplicada a varios trastornos genéticos (tanto ligados a X como autosómicos) que afectan el colágeno **tipo IV**, un colágeno tipo red que forma parte de la estructura de las membranas basales de los glomérulos renales, el oído interno y el ojo (véase más adelante la exposición sobre laminina). Se han demostrado mutaciones en varios genes que codifican para fibras de colágeno tipo IV. El principal signo de presentación es hematuria, acompañada por lesiones oculares y pérdida de la audición, y los pacientes finalmente pueden presentar enfermedad renal terminal. La microscopia electrónica revela anormalidades características de la estructura de la membrana basal y de la lámina densa.

En la **epidermólisis ampollar (“bullosa”)** la piel se rompe y forma vesículas como resultado de traumatismo menor. La forma distrófica se debe a mutaciones de *COL7A1*, que afectan la estructura del colágeno **tipo VII**; este colágeno forma fibrillas delicadas que fijan la lámina basal a fibrillas de colágeno en la dermis. Se ha mostrado que estas fibrillas de anclaje están notoriamente reducidas en esta forma de la enfermedad, lo que probablemente da por resultado la formación de vesículas. La epidermólisis ampollar simple, otra variante, se debe a mutaciones en la queratina 5 (capítulo 51).

El **escorbuto** afecta la estructura del colágeno. No obstante, se debe a una **deficiencia de ácido ascórbico** (vitamina C) (capítulo 44), y no es una enfermedad genética. Sus principales signos son sangrado de encías, hemorragias subcutáneas, y cicatrización inadecuada de heridas. Estos signos reflejan síntesis defectuosa de colágeno debido a actividad reducida de las enzimas **prolil y lisil hidroxilasas,** ambas de las cuales requieren ácido ascórbico como un cofactor, y están involucradas en modificaciones postraduccionales que dan rigidez a las moléculas de colágeno.

En la **enfermedad de Menkes,** la deficiencia de cobre da por resultado formación defectuosa de enlaces covalentes de colágeno y elastina por la enzima dependiente de cobre lisil oxidasa. (La enfermedad de Menkes se comenta en el capítulo 52.)

LA ELASTINA CONFIERE EXTENSIBILIDAD Y RETROCESO ELÁSTICO A LOS PULMONES, LOS VASOS SANGUÍNEOS Y LOS LIGAMENTOS

La **elastina** es una proteína del tejido conjuntivo de la cual dependen las propiedades de extensibilidad y retroceso elástico en los tejidos. Si bien no está tan difundida como el colágeno, la elastina está presente en grandes cantidades, particularmente en tejidos que requieren estas propiedades físicas, por ejemplo, los pulmones, los vasos sanguíneos arteriales grandes, y algunos ligamentos elásticos. También se encuentran cantidades más pequeñas de elastina en la piel, el cartílago de la oreja, y varios otros tejidos. En contraste con el colágeno, parece haber sólo un tipo genético de elastina, aunque surgen variantes por empalme alternativo (capítulo 36) del hnRNA que codifica para elastina. La elastina es sintetizada como un monómero soluble de ~ 70 kDa llamado **tropoelastina**. Algunas de las prolinas de la tropoelastina son hidroxiladas a **hidroxiprolina** por la prolil hidroxilasa, aunque no hay hidroxilisina ni hidroxilisina glucosilada. A diferencia del colágeno, la tropoelastina no se sintetiza en una proforma con péptidos de extensión. Además, la elastina no contiene secuencias de Gli-X-Y repetidas, estructura de triple hélice, o porciones carbohidrato.

Después de secreción desde la célula, ciertos residuos de lisil de la tropoelastina son desaminados oxidativamente aldehídos por la **lisil oxidasa**, la misma enzima involucrada en este proceso en el colágeno. Sin embargo, los enlaces covalentes importantes formados en la elastina son las **desmosinas**, que se producen por la condensación de tres de estos aldehídos derivados de lisina con una lisina no modificada para formar un enlace covalente tetrafuncional singular para la elastina. Una vez unida mediante enlace covalente en su forma extracelular madura, la elastina es

CUADRO 50-5 Principales diferencias entre el colágeno y la elastina

Colágeno	Elastina
1. Muchos tipos genéticos diferentes	Un tipo genético
2. Triple hélice	No hay triple hélice; formaciones de espiral al azar que permiten distensión
3. Estructura repetitiva (Gli-X-Y) n	No hay estructura repetitiva $(Gli\text{-}X\text{-}Y)_n$
4. Presencia de hidroxilisina	No hay hidroxilisina
5. Que contiene carbohidrato	No hay carbohidrato
6. Enlaces covalentes aldol intramoleculares	Enlaces covalentes de desmosina intramoleculares
7. Presencia de péptidos de extensión durante la biosíntesis	No hay péptidos de extensión presentes durante la biosíntesis

altamente insoluble y **en extremo estable**, y tiene una tasa de recambio muy baja. La elastina muestra diversas conformaciones en espiral al azar que permiten a la proteína estirarse y después tener retroceso elástico durante el desempeño de sus funciones fisiológicas.

En el **cuadro 50-5** se resumen las principales diferencias entre el colágeno y la elastina.

Se han encontrado deleciones en el gen que codifica para la elastina (situado en 7q11.23) en alrededor de 90% de los sujetos con el **síndrome de Williams-Beuren**, un trastorno del desarrollo que afecta el tejido conjuntivo y el sistema nervioso central. Las mutaciones, al afectar la síntesis de elastina, probablemente desempeñan un papel causal en la **estenosis aórtica supravalvular** que a menudo se encuentra en esta enfermedad. En enfermedades o estados como el **enfisema pulmonar**, la **cutis laxa** y el **envejecimiento de la piel** se encuentra fragmentación de la elastina o, de manera alternativa, un decremento de la misma.

LAS FIBRILINAS SON COMPONENTES ESTRUCTURALES DE LAS MICROFIBRILLAS

Las **microfibrillas** son cadenas tipo fibra finas de 10 a 12 nm de diámetro que proporcionan un **andamio** para el depósito de elastina en la ECM. Las **fibrilinas** son glucoproteínas grandes (alrededor de 350 kDa) que son componentes estructurales importantes de estas fibras. Son secretadas (después de una división proteolítica) hacia la ECM por fibroblastos, y quedan incorporadas en las microfibrillas insolubles. La **fibrilina-1** es la principal fibrilina presente pero también se han identificado fibrilina-2 y fibrilina-3, y se cree que la fibrilina-2 es importante en el depósito de microfibrillas en etapas tempranas del desarrollo. Otras proteínas, entre ellas las **proteínas asociadas a microfibrillas (MAGP)**, **fibulinas** y **miembros de la familia ADAMTS** también están asociadas con microfibrillas. Las microfibrillas de fibrilina se encuentran en fibras elásticas y en fascículos libres de elastina en los ojos, los riñones y los tendones.

El síndrome de Marfan se origina por mutaciones en el gen que codifica para la fibrilina-1

El **síndrome de Marfan** es una enfermedad hereditaria relativamente prevalente, que afecta el tejido conjuntivo; se hereda como un rasgo autosómico dominante. Afecta los **ojos** (p. ej., causa luxación del cristalino, conocida como ectopia lentis), el **sistema esquelético** (la mayoría de los pacientes es alta y muestra dedos largos [aracnodactilia] e hiperextensibilidad de las articulaciones), y el **sistema cardiovascular** (p. ej., causa debilidad de la media aórtica, que lleva a dilatación de la aorta ascendente). Abraham Lincoln quizá tuvo esta enfermedad. La mayor parte de los casos se origina por mutaciones en el gen (en el cromosoma 15) que codifica para la fibrilina-1; se han detectado mutaciones de sentido erróneo en varios pacientes con síndrome de Marfan. Esto da por resultado fibrilina anormal y/o depósito de cantidades más bajas en la ECM. Puesto que la citocina **TGF-β** normalmente se une a la fibrilina-1, la unión disminuida en el síndrome de Marfan causa alteraciones de la señalización de TGF-β, que contribuyen a las alteraciones patológicas que se encuentran en la enfermedad. Esto podría en potencia llevar al desarrollo de terapias para la enfermedad con fármacos que antagonizan el TGF-β (p. ej., el antagonista del receptor de angiotensina II, losartán).

Recientemente también se han identificado mutaciones en el gen que codifica para la fibrilina-1 como la causa de **displasia acromícrica** y **displasia geleofísica**, que se caracterizan por estatura baja, engrosamiento de la piel y rigidez de articulaciones. La **aracnodactilia contractural congénita** se asocia con una mutación en el gen que codifica para la fibrilina-2. En la **figura 50-3** se resume la secuencia de eventos probable que conduce a síndrome de Marfan.

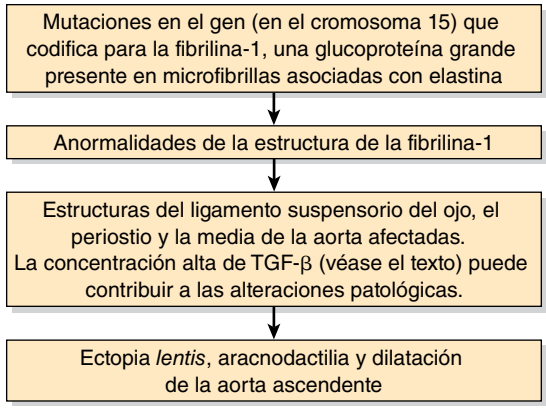


FIGURA 50-3 Probable secuencia de eventos en la causa de los principales signos mostrados por pacientes con síndrome de Marfan.

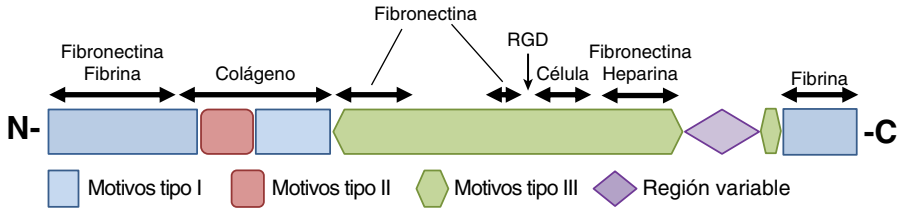


FIGURA 50-4 Estructura del monómero de fibronectina. La fibronectina es un dímero unido por puentes disulfuro (que no se muestran) cerca de los carboxilo terminales de los monómeros. Cada monómero consta principalmente de motivos repetitivos de tipo I, II o III, y tiene varios dominios de unión a proteína. Cuatro se unen a fibronectina y hay también dominios para unión a colágeno, heparina, fibrina y células. La flecha indica la ubicación aproximada de la secuencia RGD de la fibronectina, que interactúa con diversos receptores de integrina fibronectina sobre superficies celulares.

LA FIBRONECTINA ES UNA GLUCOPROTEÍNA IMPORTANTE INVOLUCRADA EN LA ADHESIÓN Y LA MIGRACIÓN CELULARES

La **fibronectina** es una glucoproteína importante de la ECM, que también se encuentra en una forma soluble en el plasma. Consta de dos subunidades idénticas, cada una de alrededor de 230 kDa, unidas por dos puentes disulfuro cerca de sus carboxilo terminales. El gen que codifica para la fibronectina es muy grande; contiene alrededor de 50 exones; el RNA producido por su transcripción queda sujeto a considerable empalme alternativo, y se han detectado hasta 20 mRNA diferentes en diversos tejidos. La fibronectina contiene tres tipos de motivos repetitivos (I, II y III), que están organizados en **dominios** funcionales (al menos 7); las funciones de estos dominios comprenden unión a fibronectina, habilitación de moléculas de la proteína para interactuar, **heparina** (véase más adelante), fibrina, colágeno, y superficies celulares (**figura 50-4**). La fibronectina se une a células por medio de una proteína receptora transmembrana que pertenece a la clase de proteínas **integrina** (capítulo 55). Las integrinas son heterodímeros, que contienen diversos tipos de cadenas polipeptídicas α y β. La fibronectina contiene una **secuencia Arg-Gli-Asp (RGD)** que se une al receptor. Esta secuencia es compartida por varias otras proteínas presentes en la ECM que se unen a integrinas que se encuentran en las membranas de células plasmáticas, y su presencia en péptidos sintéticos las habilita para inhibir la unión de fibronectina a células. En la **figura 50-5** se ilustra la interacción del colágeno, la fibronectina y la laminina, todas ellas proteínas importantes de la ECM, con una célula típica (p. ej., fibroblasto) presente en la matriz.

El receptor de fibronectina interactúa indirectamente con microfilamentos de **actina** (capítulo 51) presentes en el citosol (**figura 50-6**). Están involucradas varias proteínas, conocidas en conjunto como **proteínas de fijación**; éstas incluyen **talina**, **vinculina**, **α-actinina** y **paxilina**. La talina enlaza la integrina a la actina por medio de la vinculina, que se une a α-actinina y paxilina, así como a actina. La α-actinina también se une a la actina, mientras que la paxilina se une a la integrina; esos complejos proteínicos grandes forman **adhesiones focales** que no sólo anclan las células a la ECM, sino que también transmiten señales desde el exterior que influyen sobre la conducta celular. De este modo, la interacción de la fibronectina con su receptor proporciona una ruta por la cual **el exterior de la célula puede comunicarse con el interior**. La fibronectina también está involucrada en la **migración celular** porque proporciona un sitio de unión para células y, así, las ayuda a dirigir su trayectoria por la

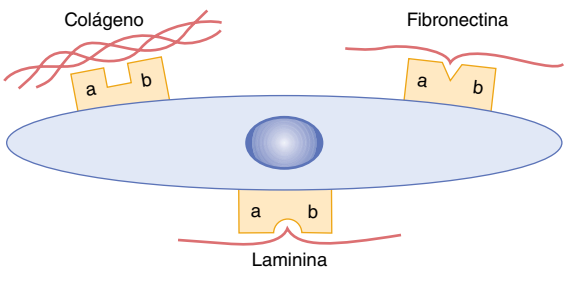


FIGURA 50-5 Representación esquemática de interacciones de una célula con proteínas importantes de la ECM. a y b indican cadenas polipeptídicas α y β de integrinas. (Redibujado según Yamada KM: Adhesive recognition sequences. J Biol Chem 1991;266:12809).

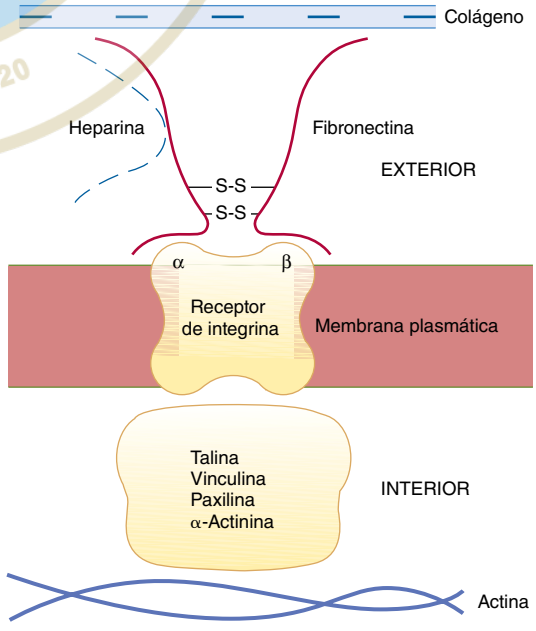


FIGURA 50-6 Representación esquemática de fibronectina que interactúa con actina en el citosol por medio de un receptor de fibronectina integrina. En aras de la sencillez, las proteínas de fijación están representadas como un complejo.

ECM. La cantidad de fibronectina alrededor de muchas **células transformadas** está agudamente reducida, lo que explica en parte su interacción fallida con la ECM.

LA LAMININA ES UN COMPONENTE PROTEÍNICO IMPORTANTE DE LAS LÁMINAS BASALES

Las **láminas basales** son áreas especializadas de la ECM que rodean células epiteliales y algunas otras células (p. ej., células musculares). La **laminina** (una glucoproteína de alrededor de 850 kDa y 70 nm de longitud) consta de tres cadenas polipeptídicas alargadas separadas (cadenas α, β y γ) enlazadas juntas para formar una forma compleja, alargada (figura 51-11, **en la cual la laminina se llama merosina**). Hay diversas variantes genéticas de la laminina; cuyos detalles no se presentan aquí. En las láminas basales, la laminina forma redes que están unidas a redes de colágeno tipo IV por la **entactina** (también llamada nidógeno), una glucoproteína que contiene una secuencia RGD y el proteoglucano heparán sulfato, **perlecano**. El colágeno interactúa con la laminina (en lugar de directamente con la superficie celular), que a su vez interactúa con integrinas u otras proteínas, como **distroglucanos** (capítulo 51) lo que ancla así la lámina a las células (**figura 50-7**).

En el **glomérulo renal**, la lámina basal consta de dos hojas de células separadas (una endotelial y una epitelial), cada una dispuesta en lados opuestos de la lámina; estas tres capas constituyen la **membrana glomerular.** Esta lámina basal relativamente gruesa tiene un papel importante en la **filtración glomerular**, al regular el paso de moléculas grandes (en su mayor parte proteínas plasmáticas) a través del glomérulo hacia el túbulo renal. La membrana glomerular permite que moléculas pequeñas, como la **inulina** (5.2 kDa), la crucen tan fácilmente como el agua. Por otro lado, sólo una pequeña cantidad de la proteína **albúmina** (69 kDa), la principal proteína plasmática, pasa a través del glomérulo normal. Esto se explica por dos grupos de hechos: 1) los **poros** en la membrana glomerular son suficientemente grandes como para permitir el paso de moléculas de hasta alrededor de 8 nm. 2) La albúmina es más pequeña que este tamaño de poro, pero las **cargas negativas** del heparán sulfato y de ciertas glucoproteínas que contienen ácido siálico presentes en la lámina evitan que lo cruce fácilmente. Dichas cargas negativas repelen la albúmina y casi todas las proteínas plasmáticas, que tienen carga negativa al pH de la sangre. La estructura normal del glomérulo puede quedar gravemente dañada en ciertos tipos de **glomerulonefritis** (p. ej., causada por anticuerpos dirigidos contra diversos componentes de la membrana glomerular). Esto altera los poros y las cantidades y disposiciones de las macromoléculas con carga negativa arriba mencionadas, y puede haber paso hacia la orina de cantidades relativamente masivas de alúmina (y de algunas otras proteínas plasmáticas), lo que da por resultado **albuminuria** grave.

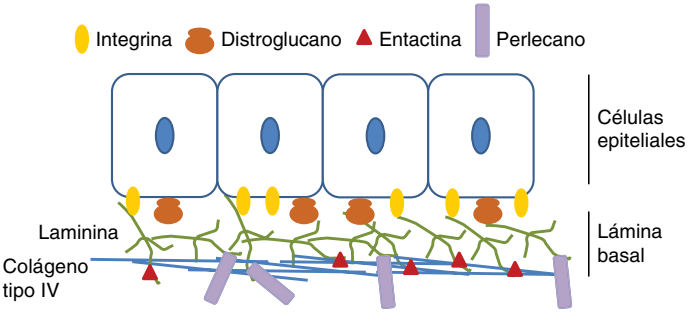


FIGURA 50-7 Estructura de la lámina basal. La laminina está fija al colágeno tipo IV por medio de entactina y perlecano (lo cual forma la lámina basal) y a la capa de células epiteliales por medio de integrinas y distroglucanos.

PROTEOGLUCANOS Y GLUCOSAMINOGLUCANOS

Los glucosaminoglucanos que se encuentran en proteoglucanos están constituidos de disacáridos repetitivos

Los **proteoglucanos** son proteínas que contienen **glucosaminoglucanos** (GAG) enlazados de manera covalente (capítulo 15). Al menos 30 se han caracterizado y se les han dado nombres como sindecano, betaglucano, serglicina, perlecano, agrecano, versicano, decorina, biglucano, y fibromodulina. Las proteínas unidas de manera covalente a glucosaminoglucanos se llaman **"proteínas centrales"**. Los proteoglucanos varían en la distribución tisular, la naturaleza de la proteína central, los glucosaminoglucanos unidos, y su función; su aislamiento y caracterización han resultado difíciles, pero el uso de tecnología de DNA recombinante está empezando a proporcionar información importante acerca de sus estructuras. La cantidad de **carbohidrato** en un proteoglucano por lo general es mucho mayor que la que se encuentra en una glucoproteína y puede comprender hasta 95% de su peso. En las **figuras 50-8** y **50-9** se muestra la estructura general de un proteoglucano particular, el **agrecano**, el principal tipo que se encuentra en el cartílago. Es muy grande (alrededor de 2×10^3 kDa) y su estructura general semeja la de un cepillo para botellas. Contiene una cadena larga de ácido hialurónico (un tipo de GAG) (capítulo 15), al cual proteínas de enlace están unidas **de manera no covalente**. A su vez, las proteínas de enlace interactúan de modo no covalente con moléculas de proteína centrales, a partir de las cuales se proyectan cadenas de otros GAG (en este caso, queratán sulfato y condroitín sulfato). En la exposición sobre cartílago (véase más adelante) se dan más detalles sobre esta macromolécula.

Hay al menos siete GAG: **ácido hialurónico (hialuronano)**, **condroitín sulfato**, **queratán sulfatos I y II**, **heparina**, **heparán sulfato** y **dermatán sulfato**. Los GAG son polisacáridos no ramificados constituidos de disacáridos repetitivos, un componente de los cuales siempre es un **aminoazúcar** (de ahí el nombre GAG), sea D-glucosamina o D-galactosamina. El otro componente del disacárido repetitivo (excepto en el caso del queratán sulfato) es un **ácido urónico**, sea ácido L-glucurónico (GlcUA) o su 5′-epímero, ácido L-idurónico (IdUa). Con la excepción del ácido hialurónico, todos los GAG contienen **grupos sulfato**, sea como *O*-ésteres o como *N*-sulfato (en la heparina y en el heparán sulfato). El ácido hialurónico también es excepcional porque parece existir como un polisacárido en la ECM, sin fijación covalente a proteína, como lo especifica la definición de un proteoglucano antes proporcionada. Ha resultado difícil trabajar tanto

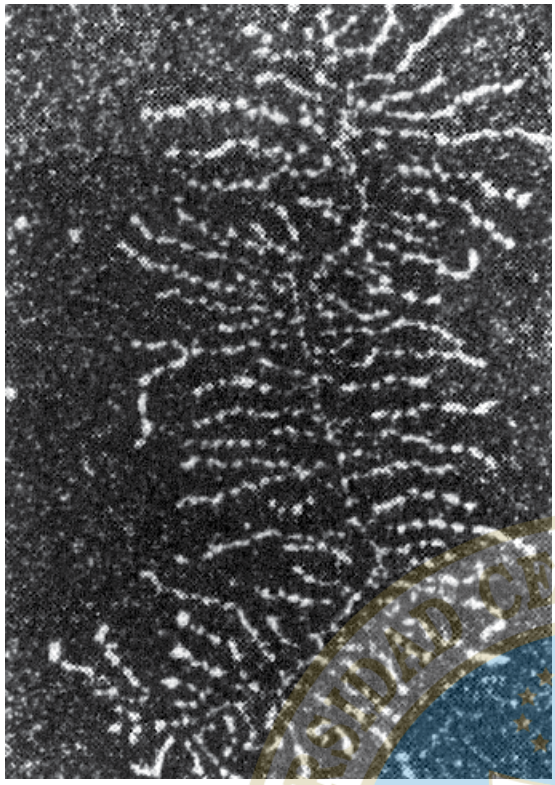


FIGURA 50-8 Micrografía electrónica de campo oscuro de un agregado de proteoglucanos. Las subunidades de proteoglucano y el esqueleto filamentoso están en particular bien extendidas en esta imagen. (Reproducido, con autorización, de Rosenberg L, Hellman W, Kleinschmidt AK: Electron microscopic studies of proteoglycan aggregates from bovine articular cartilage. J Biol Chem 1975;250:1877).

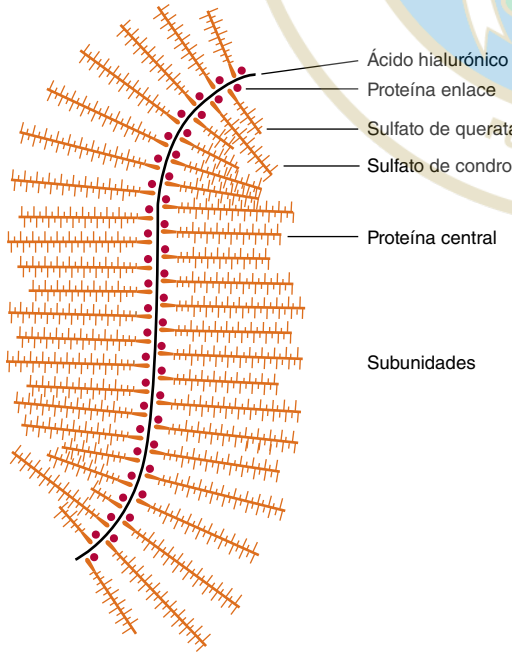


FIGURA 50-9 Representación esquemática del proteoglucano agrecano. (Reproducido, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducido con la amable autorización de Springer Science and Business Media).

con los GAG como con los proteoglucanos, debido en parte a su complejidad. Empero, puesto que son componentes importantes de la ECM, tienen varias funciones biológicas importantes y están involucrados en diversos procesos mórbidos, el interés por ellos ha aumentado mucho en años recientes.

La biosíntesis de glucosaminoglucanos comprende fijación a proteínas centrales, alargamiento de cadena y terminación de cadena

Fijación a proteínas centrales

El enlace entre GAG y sus proteínas centrales por lo general es de uno de tres tipos.

1. Un **enlace *O*-glucosídico** entre la **xilosa** (Xil) y **Ser**, un enlace que es singular para los proteoglucanos; dicho enlace está formado por la transferencia de un residuo Xil a Ser desde la UDP-xilosa. A continuación se añaden dos residuos de Gal al residuo de Xil, lo cual forma un **enlace trisacárido**, Gal-Gal-Xil-Ser. El crecimiento adicional de cadena del GAG ocurre en la RAL terminal.
2. Se forma un **enlace *O*-glucosídico** entre **GalNAc** (*N*-acetil-galactosamina) y **Ser** (**Tre**) (figura 46-1A), presente en el queratán sulfato II. Este enlace se forma por donación a Ser (o Tre) de un residuo de GalNAc, usando UDP-GalNAc como su donante.
3. Un **enlace *N*-glucosamina** entre **GlcNAc** (*N*-acetil glucosamina) y el nitrógeno amida de **Asn**, como se encuentra en glucoproteínas *N*-enlazadas (figura 46-1B). Se cree que su síntesis comprende oligosacárido dolicol-PP.

Las proteínas centrales se sintetizan en el **retículo endoplasmático** y ahí también se forman al menos algunos de los enlaces anteriores. Casi todos estos últimos pasos en la biosíntesis de cadenas de GAG, y sus modificaciones subsiguientes, ocurren en el **aparato de Golgi**.

Alargamiento de cadena

Azúcares nucleótido apropiados y **glucosiltransferasas** altamente específicas localizadas en el aparato de Golgi se emplean para sintetizar las cadenas de oligosacárido de los GAG. Aquí parece ser cierta la relación **"una enzima, un enlace"**, como sucede para ciertos tipos de enlaces que se encuentran en glucoproteínas. Los sistemas enzimáticos involucrados en el alargamiento de cadena tienen capacidad de reproducción de alta fidelidad de GAG complejos.

Terminación de cadena

Esto parece depender de 1) **sulfación**, particularmente en ciertas posiciones de los azúcares, y 2) la **progresión** de la cadena de GAG en crecimiento en dirección contraria al sitio de la membrana donde ocurre catálisis.

Modificaciones adicionales

Después de formación de la cadena de GAG suceden **muchas modificaciones químicas**, como la introducción de grupos sulfato en GalNAc y otras porciones, y la epimerización de GlcUA a

residuos de IdUa. Las enzimas que catalizan la sulfación se designan **sulfotransferasas** y usan **3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato** (PAPS; sulfato activo) (capítulo 32) como el donante de sulfato. Estas enzimas situadas en el aparato de Golgi son altamente específicas, y enzimas separadas catalizan las sulfación en diferentes posiciones (p. ej., los carbonos 2, 3, 4 y 6) en los azúcares aceptores. Una **epimerasa** cataliza conversiones de residuos glucuronil en iduronil.

Los proteoglucanos son importantes en la organización estructural de la matriz extracelular

Los proteoglucanos se encuentran en **todos los tejidos** del organismo, principalmente en la ECM o "sustancia fundamental"; están asociados de maneras específicas uno con otro y con los otros componentes estructurales importantes de la matriz, colágeno y elastina. Algunos proteoglucanos se unen a colágeno y otros a elastina; estas interacciones son importantes en la determinación de la organización estructural de la matriz. Algunos proteoglucanos (p. ej., decorina) también pueden **unirse a factores de crecimiento**, como TGF-β, y modulan sus efectos sobre las células. Además, algunos de ellos interactúan con ciertas **proteínas adhesivas**, como fibronectina y laminina (véase antes), que también se encuentran en la matriz. Los GAG presentes en los proteoglucanos son **polianiones** y, por tanto, se unen a policationes y cationes como Na^+ y K^+. Esta última capacidad atrae agua por presión osmótica hacia la ECM y contribuye a su turgencia. Los GAG también forman **gel** a concentraciones relativamente bajas. Debido a la naturaleza extendida larga de las cadenas de polisacáridos de GAG y su capacidad para formar gel, los proteoglicanos pueden actuar como **tamices**, al restringir el paso de macromoléculas grandes hacia la ECM pero permitir difusión relativamente libre de moléculas pequeñas. De nuevo, debido a sus estructuras extendidas y los enormes agregados macromoleculares que a menudo forman, ocupan un **volumen grande** de la matriz en comparación con proteínas.

Diversos glucosaminoglucanos muestran diferencias de estructura, y tienen distribuciones características y funciones diversas

Los siete GAG antes nombrados difieren uno de otro en varias de las propiedades que siguen: composición de aminoazúcar, composición de ácido urónico, enlaces entre estos componentes, longitud de cadena de los disacáridos, la presencia o ausencia de grupos sulfato y sus posiciones de fijación a los azúcares constituyentes, la naturaleza de las proteínas centrales a las cuales están unidos, la naturaleza del enlace a proteína central, su distribución tisular y subcelular, y sus funciones biológicas.

Ahora se comenta brevemente la estructura (**figura 50-10**), la distribución y las funciones de cada uno de los GAG. En el **cuadro 50-6** se resumen las principales características de los siete GAG.

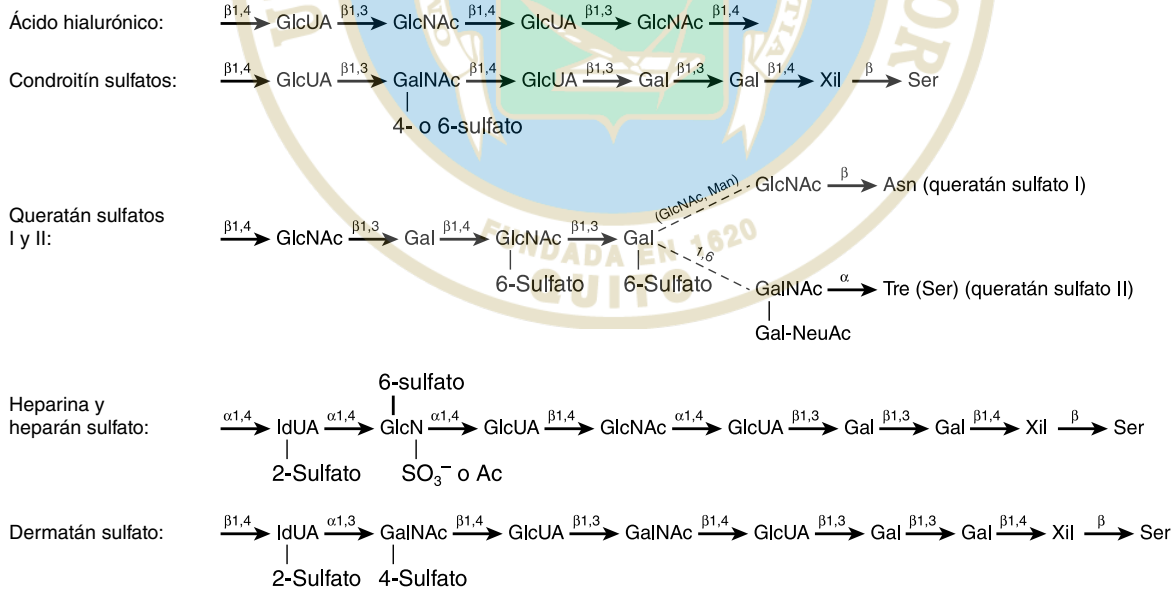


FIGURA 50-10 Estructuras de glucosaminoglucanos y sus fijaciones a proteínas centrales. (Ac, acetil; Asn, L-asparagina; Gal, D-galactosa; GalN, D-galactosamina; GlcN, D-glucosamina; GlcUA, D-ácido glucurónico; IdUa, L-ácido idurónico; Man, D-manosa; NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico; Ser, L-serina; Tre, L-treonina; Xil, L-xilosa.) Las estructuras resumen sólo son representaciones cualitativas, y no reflejan, por ejemplo, la composición de ácido urónico de glucosaminoglucanos híbridos como heparina y dermatán sulfato, que contienen ácido tanto L-idurónico como D-glucurónico. Tampoco debe suponerse que los sustituyentes indicados siempre están presentes, por ejemplo, mientras que casi todos los residuos de ácido idurónico en la heparina portan un grupo 2′-sulfato, una proporción mucho más pequeña de estos residuos está sulfatada en el dermatán sulfato. Se muestra la presencia de trisacáridos de enlace (Gal-GalXil) en los condroitín sulfatos, heparina y heparán sulfato y dermatán sulfatos. Un poco modificado y reproducido, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducido con la amable autorización de Springer Science and Business Media).

CUADRO 50-6 Propiedades de los glucosaminoglucanos

GAG	Azúcares	Sulfato[a]	Enlace proteínico	Ubicación
Ácido hialurónico	GlcNAc, GLcUA	-	Ninguno	Piel, líquido sinovial, hueso, cartílago, humor vítreo, tejidos embrionarios
Condroitín sulfato	GalNAc, GlcUA	GalNAc	Xil-Ser; asociado con HA por medio de proteínas de enlace	Cartílago, hueso, sistema nervioso central
Queratán sulfato I y II	GlcNAc, Gal	GlcNAc	GlcNAc-Asn (KS I) GalNAc-Tre (KS II)	Córnea, cartílago, tejido conjuntivo laxo
Heparina	Gln, IdUA	GlcN GlcN IdUA	Ser	Mastocitos, hígado, pulmón, piel
Heparán sulfato	GlcN, GlcUA	GlcN	Xil-Ser	Piel, membrana basal renal
Dermatán sulfato	GalNAc, IdUA, (GlcUA)	GalNAc IdUA	Xil-Ser	Piel, distribución amplia

El sulfato está fijo a diversas posiciones de los azúcares indicados (figura 50-10). Note que todos los GAG, excepto los queratán sulfatos, contienen un ácido urónico que puede ser ácido glucurónico o idurónico.

Ácido hialurónico

El **ácido hialurónico** consta de una cadena no ramificada de unidades de disacárido repetitivas que contienen GlcUA y GlcNAc. Está presente en bacterias y se encuentra en la ECM de casi todos los tejidos animales, pero su concentración es en especial alta en tipos muy hidratados, como la piel y el cordón umbilical, y en el hueso, el cartílago, las articulaciones (líquido sinovial) y en el humor vítreo en el ojo, así como en tejidos embrionarios. Se cree que desempeña una función importante en permitir la **migración celular** durante la morfogénesis y la reparación de heridas. Su capacidad para atraer agua hacia la ECM desencadena aflojamiento de la matriz, lo cual ayuda a este proceso. Las concentraciones altas de ácido hialurónico junto con condroitín sulfatos presentes en el **cartílago** contribuyen a su compresibilidad (véase más adelante).

Condroitín sulfatos (condroitín 4-sulfato y condroitín 6-sulfato)

Los proteoglucanos enlazados al **condroitín sulfato** por el enlace Xil-Ser *O*-glucosídico son componentes prominentes del **cartílago** (véase más adelante). El disacárido repetitivo es similar al que se encuentra en el ácido hialurónico; contiene GlcUA, pero **GalNAc** reemplaza a GlcNAc. El GalNAc es sustituido con **sulfato** en su posición 4′ o 6′; alrededor de un sulfato está presente por cada unidad de disacárido. Los condroitín sulfatos tienen un papel importante en el mantenimiento de la estructura de la ECM. Se encuentran en sitios de calcificación en **hueso** endocondral y son un componente importante del **cartílago**. Se encuentran en cantidades altas en la ECM del sistema nervioso central y, además de su función estructural, se cree que actúan como moléculas señalizadoras en la prevención de la reparación de terminaciones nerviosas después de lesión.

Queratán sulfatos I y II

Los queratán sulfatos constan de unidades de disacárido **Gal-GlcNAc** repetitivas que contienen **sulfato** fijo a la posición 6′ de GlcNAc u ocasionalmente de Gal (figura 50-10).

El **queratán sulfato I** originalmente se aisló a partir de la **córnea**, mientras que el **queratán sulfato II** provino del cartílago. No obstante, los dos GAG difieren en sus enlaces estructurales a las proteínas centrales, y puesto que ahora se sabe que la distribución de los dos tipos no es específica para tejido la clasificación se basa en el enlace de proteína diferente. En el ojo, se encuentran entre fibrillas de colágeno, y desempeñan un papel crucial en la transparencia de la córnea. Los cambios de la composición de proteoglucano que se encuentran en cicatrices corneales desaparecen cuando la córnea cicatriza.

Heparina

El disacárido repetitivo **heparina** contiene **glucosamina** (GlcN) y uno de los dos ácidos urónicos (**figura 50-11**). Casi todos los grupos amino de los residuos de GlcN están ***N*-sulfatados**, pero algunos están acetilados. La GlcN también porta un sulfato fijo al carbono 6.

Casi todos los residuos de ácido urónico son **IdUa**. Inicialmente, todos los ácidos urónicos son GlcUA, pero una 5′-epimerasa convierte alrededor de 90% de los residuos de GlcUA en IdUa después de que se forma la cadena de polisacárido. La molécula de proteína del proteoglucano heparina es singular; consta exclusivamente de residuos de serina y glicina. Alrededor de dos terceras partes de los residuos de serina contienen cadenas de GAG, por lo general de 5 a 15 kDa, pero en ocasiones mucho más grandes. La heparina se encuentra en los gránulos de los **mastocitos** y en el hígado, los pulmones y la piel. Es un **anticoagulante** importante. Se une a los factores IX y XI, pero su interacción más importante es con **antitrombina plasmática** (capítulo 55). La heparina también puede unirse de manera específica a la **lipoproteína lipasa** presente en las paredes de capilares, y causa una liberación de esta enzima hacia la circulación.

Heparán sulfato

Esta molécula se encuentra en muchas **superficies celulares** como un proteoglucano, y es extracelular. Contiene **GlcN** con menos *N*-sulfatos que la heparina y, a diferencia de esta última, su

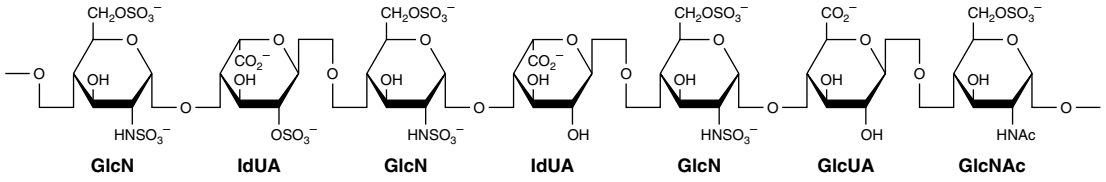


FIGURA 50-11 Estructura de la heparina. La sección de polímero ilustra las características estructurales típicas de la heparina; sin embargo, se ha seleccionado de manera arbitraria la secuencia de unidades de disacárido repetitivas con sustituciones diversas. Además, también puede haber residuos de glucosamina no *O*-sulfatados o 3-*O*-sulfatados. (Modificado, redibujado y reproducido, con autorización, de Lindahl U, *et al*: Structure and biosynthesis of heparin-like polysaccharides. Fed Proc 1977;36:19).

ácido urónico predominante es **GlcUA**. El **heparán sulfato** está asociado con la membrana plasmática de células; sus proteínas centrales en realidad abarcan esa membrana. En ésta pueden actuar como **receptores** y pueden participar también en la mediación del **crecimiento celular** y la **comunicación célula-célula**. La fijación de células a su sustrato en cultivo está mediada al menos en parte por heparán sulfato. Este proteoglucano también se encuentra en la **membrana basal de los riñones**, junto con colágeno tipo IV y laminina (véase antes), donde desempeña una función importante en la determinación de la selectividad de carga de la filtración glomerular.

Dermatán sulfato

Esta sustancia se encuentra ampliamente distribuida en tejidos animales. Su estructura es similar a la del condroitín sulfato, excepto que en lugar de un GlcUA en el enlace β-1,3 a GalNAc, contiene un **IdUa** en un enlace de α-1,3 a **GalNAc**. La formación del IdUa ocurre, como en la heparina y en el heparán sulfato, mediante el 5′-epimerización de GlcUA. Dado que esto se encuentra regulado por el grado de sulfación, y puesto que la asociación es incompleta, el dermatán sulfato contiene disacáridos **tanto** IdUa-GalNAc **como** GlcUA-GalNAc. El **dermatán sulfato** está ampliamente distribuido en los tejidos, y es el principal GAG en la piel. La evidencia sugiere que puede participar en la coagulación de la sangre, la reparación de heridas, y la resistencia a la infección.

Los proteoglucanos también se encuentran en **ubicaciones intracelulares**, como el núcleo; no se ha elucidado su función en este orgánulo. Están presentes en algunos gránulos de almacenamiento o secretores, como los gránulos cromafines de la médula suprarrenal. Se ha postulado que desempeñan un papel en la liberación del contenido de esos gránulos. En el **cuadro 50-7** se resumen las diversas funciones de los GAG.

Las deficiencias de enzimas que degradan glucosaminoglucanos dan por resultado mucopolisacaridosis

Tanto las **exoglucosidasas** como las **endoglucosidasas** degradan GAG. Al igual que casi todas las otras biomoléculas, los GAG están sujetos a **recambio**; son tanto sintetizados como degradados. En tejidos de adulto, los GAG por lo general muestran recambio relativamente **lento**; sus vidas medias son de días a semanas.

La elucidación de las deficiencias de enzimas específicas que ocurren en ciertos **errores congénitos del metabolismo** ha ayudado mucho a entender las vías de degradación de GAG, como en el caso de las glucoproteínas (capítulo 46) y los glucoesfingolípidos (capítulo 24). Cuando las GAG están involucradas, estos errores congénitos se llaman **mucopolisacaridosis** (**cuadro 50-8**).

La **degradación** de GAG es llevada a cabo por una batería de **hidrolasas lisosomales**, entre ellas se cuentan **endoglucosidasas**, **exoglucosidasas** y **sulfatasas**, que por lo general actúan en secuencia para degradar los diversos GAG. En el cuadro 50-8 se indican varias de ellas.

Las **mucopolisacaridosis** (**MPS**) (cuadro 50-8) comparten un mecanismo causal común (**figura 50-12**). Por lo general se heredan de una manera **autosómica recesiva**; los **síndromes de Hurler** y **de Hunter** quizá son los más ampliamente estudiados. Ninguna es común; en general, estas enfermedades son crónicas y progresivas, y afectan múltiples órganos. Muchos pacientes muestran organomegalia (p. ej., hepatomegalia y esplenomegalia), anormalidades graves del desarrollo de cartílago y hueso, aspecto facial anormal, y retraso mental. Además, puede haber

CUADRO 50-7 Algunas funciones de los glucosaminoglucanos y proteoglucanos

• Actúan como componentes estructurales. Componentes de la ECM
• Tienen interacciones específicas con colágeno, elastina, fibronectina, laminina y otras proteínas como factores de crecimiento
• Como polianiones, se unen a policationes y cationes
• Contribuyen a la turgencia característica de diversos tejidos
• Actúan como tamiz en la ECM
• Facilitan la migración celular (HA)
• Tienen un papel en la compresibilidad del cartílago en la carga de peso (HA, CS)
• Desempeñan un papel en la transparencia corneal (KS I y DS)
• Tienen un papel estructural en la esclerótica (DS)
• Actúan como anticoagulantes (heparina)
• Son componentes de las membranas plasmáticas, donde pueden actuar como receptores y participan en la adhesión celular y en interacciones célula-célula (p. ej., HS)
• Determinan la selectividad de carga del glomérulo renal (HS)
• Son componentes de vesículas sinápticas y de otras vesículas (p. ej., HS)

Abreviaturas: CS, condroitín sulfato; DS, dermatán sulfato; ECM, matriz extracelular; HA, ácido hialurónico; HS, heparán sulfato; KS I, queratán sulfato I.

CUADRO 50-8 Mucopolisacaridosis

Nombre de la enfermedad	Abreviatura[a]	Enzima defectuosa	GAG afectado(s)	Síntomas
Síndrome de Hurler-, Scheie-, Hurler-Scheie	MPS I	α-L-Iduronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato	Retraso mental, rasgos faciales toscos, hepatoesplenomegalia, córnea turbia
Síndrome de Hunter	MPS II	Iduronato sulfatasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato	Retraso mental
Síndrome de Sanfilippo A	MPS IIIA	Heparán sulfato-*N*-sulfatasa[b]	Heparán sulfato	Retraso del desarrollo, disfunción motora
Síndrome de Sanfilippo B	MPS IIIB	α-*N*-Acetilglucosaminidasa	Heparán sulfato	Igual que la MPS IIIA
Síndrome de Sanfilippo C	MPS IIIC	α-Glucosaminida *N*-acetiltransferasa	Heparán sulfato	Igual que la MPS IIIA
Síndrome de Sanfilippo D	MPS IIID	*N*-Acetilglucosamina 6-sulfatasa	Heparán sulfato	Igual que la MPS IIIA
Síndrome de Morquio A	MPS IVA	Galactosamina 6-sulfatasa	Queratán sulfato, condroitín 6-sulfato	Displasia esquelética, estatura baja
Síndrome de Morquio B	MPS IVB	β-Galactosidasa	Queratán sulfato	Igual que la MPS IVA
Síndrome de Maroteaux-Lamy	MPS VI	*N*-Acetilgalactosamina 4-sulfatasa[c]	Dermatán sulfato	Curvatura de la columna vertebral, estatura baja, displasia esquelética, defectos cardíacos
Síndrome de Sly	MPS VII	β-Glucuronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato, condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato	Displasia esquelética, estatura baja, hepatoesplenomegalia, córnea opaca
Síndrome de Natowicz	MPS IX	Hialuronidasa	Ácido hialurónico	Dolor articular, estatura baja

[a] Los términos MPS V y MPS VIII ya no se utilizan.
[b] También llamada sulfaminidasa.
[c] También llamada arilsulfatasa B.

defectos de la audición, la visión y el sistema cardiovascular. Las pruebas diagnósticas incluyen análisis de GAG en muestras de orina o de biopsia de tejido; valoración de enzimas defectuosas sospechadas en leucocitos, fibroblastos o suero, y prueba para genes específicos. Ahora a veces es posible el diagnóstico prenatal usando células de líquido amniótico o muestras de biopsia de vellosidades coriónicas. En algunos casos, se obtiene un **antecedente familiar** de una mucopolisacaridosis.

El término **"mucolipidosis"** se introdujo para denotar enfermedades en las que se combinaban características comunes tanto a mucopolisacaridosis como a esfingolipidosis (capítulo 24). En la **sialidosis** (mucolipidosis I, ML-I), diversos oligosacáridos derivados de glucoproteínas y ciertos gangliósidos se acumulan en los tejidos. En el capítulo 46 se describen la **enfermedad de células I** (ML-II) y la **seudopolidistrofia de Hurler** (ML-III). El término "mucolipidosis" se retiene porque aún está en uso clínico relativamente difundido, pero es inapropiado para estas dos últimas enfermedades porque el mecanismo de su causa comprende **ubicación errónea** de ciertas enzimas lisosomales. Los defectos genéticos del catabolismo de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas (p. ej., manosidosis, fucosidosis) también se describen en el capítulo 46. Casi todos estos defectos se caracterizan por excreción aumentada de diversos fragmentos de glucoproteínas en la orina, que se acumulan debido al bloqueo metabólico, como en el caso de las mucolipidosis.

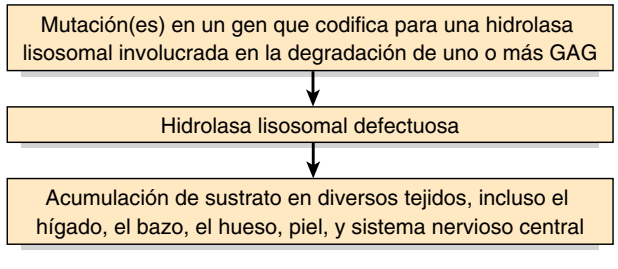


FIGURA 50-12 Esquema simplificado de la causa de una mucopolisacaridosis, como el síndrome de Hurler. La acumulación notoria de los GAG en los tejidos mencionada en la figura podría causar hepatomegalia, esplenomegalia, alteraciones del crecimiento, rasgos faciales toscos y retraso mental.

La **hialuronidasa** es una enzima importante involucrada en el catabolismo tanto del ácido hialurónico como del condroitín sulfato. Es una endoglucosidasa ampliamente distribuida, que divide enlaces hexosaminídicos. A partir del ácido hialurónico, la enzima generará un tetrasacárido con la estructura (GlcUAβ-1,3-GlcNAc-β-1,4)$_2$, que puede ser más degradado por una β-glucuronidasa y β-*N*-acetilhexosaminidasa. Un defecto genético en la hialuronidasa causa MPS IX, un trastorno por almacenamiento lisosomal en el cual se acumula ácido hialurónico en las articulaciones.

Los proteoglucanos se asocian con enfermedades importantes y con el envejecimiento

El ácido hialurónico puede ser importante para permitir que **células tumorales migren** por la ECM. Las células tumorales pueden inducir a los fibroblastos para que sinteticen cantidades muy aumentadas de este GAG, lo que tal vez facilita su propia diseminación. Algunas células tumorales tienen menos heparán sulfato en su superficie y quizás esto se encuentre implicado en la **falta de adhesividad** que muestran estas células.

La íntima de la **pared arterial** contiene ácido hialurónico y proteoglucanos condroitín sulfato, dermatán sulfato y heparán sulfato. De estos proteoglucanos, el dermatán sulfato se une a lipoproteínas de baja densidad plasmáticas. Además, el dermatán sulfato parece ser el principal GAG sintetizado por las células de músculo liso arteriales. Debido a que son estas células las que proliferan en las **lesiones ateroscleróticas** en arterias, el dermatán sulfato tal vez desempeñe un papel importante en la aparición de la placa aterosclerótica.

En diversos tipos de **artritis**, los proteoglucanos pueden actuar como **autoantígenos** y contribuir así a las características patológicas de estas enfermedades. La cantidad de condroitín sulfato en el cartílago disminuye con la edad, mientras que las cantidades de queratán sulfato y ácido hialurónico aumentan. Estos cambios quizá contribuyan a la aparición de **osteoartritis**, al igual que la actividad aumentada de la enzima agrecanasa, que actúa para degradar el agrecano. Con el **envejecimiento** también se observan cambios de las cantidades de ciertos GAG en la piel, y ayudan a explicar los cambios característicos que se notan en este órgano en el anciano.

Durante los años pasados, ha quedado claro que además de su papel estructural en la ECM, los proteoglucanos funcionan como moléculas señalizadoras que influyen sobre la conducta celular y ahora se cree que participan en diversas enfermedades, como la fibrosis, la enfermedad cardiovascular y el cáncer.

EL HUESO ES UN TEJIDO CONJUNTIVO MINERALIZADO

El hueso contiene material tanto **orgánico** como **inorgánico**. La materia **orgánica** es principalmente **proteína**. Las principales proteínas del hueso se listan en el **cuadro 50-9**; el **colágeno tipo I** es la principal proteína; comprende 90 a 95% del material orgánico. También hay colágeno tipo 5 en pequeñas cantidades, al igual que diversas proteínas que no son colágeno, algunas de las cuales son relativamente específicas para el hueso. El componente **inorgánico** o mineral es principalmente **hidroxiapatita** cristalina —$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$— junto con sodio, magnesio, carbonato y fluoruro. 99% del calcio del organismo está contenido en el hueso (capítulo 44). La hidroxiapatita confiere al hueso la fuerza y la resistencia requeridas para sus papeles fisiológicos.

El hueso es una **estructura dinámica** que pasa por ciclos continuos de remodelado, que constan de resorción, seguida por depósito de nuevo tejido óseo. Este remodelado permite que el hueso se adapte a señales tanto físicas (p. ej., aumentos de la carga de peso) como hormonales.

Los principales tipos de células involucrados en la resorción y el depósito óseos son los **osteoclastos** y los **osteoblastos**, respectivamente (**figura 50-13**). Los **osteocitos** se encuentran en el hueso maduro, y están involucrados también en el mantenimiento de la matriz ósea. Descienden de los osteoblastos y son de vida muy prolongada, con una vida media promedio de 25 años.

Los **osteoclastos** son células multinucleadas derivadas de células madre hematopoyéticas pluripotentes. Los osteoclastos poseen un dominio de membrana apical, y muestran un borde en cepillo que desempeña una función clave en la resorción ósea (**figura 50-14**). Una **ATPasa** translocadora de protón, especial, expele protones a través del borde en cepillo hacia el área de resorción, que es el microambiente BPH bajo que se muestra en la figura. Esto disminuye el pH local a 4.0 o menos, lo que aumenta así la solubilidad de la hidroxiapatita y ayuda a su descomposición hacia Ca^{2+}, H_3PO_4 y H_2CO_3 y agua, lo que permite así que ocurra

CUADRO 50-9 Las principales proteínas que se encuentran en el hueso[a]

Proteínas	Comentarios
Colágenos	
Colágeno tipo I	Alrededor de 90% de la proteína ósea total. Compuesta de dos cadenas α1(I) y una cadena α2(I)
Colágeno tipo V	Componente menor
Proteínas no colágeno	
Proteínas plasmáticas	Mezcla de varias proteínas plasmáticas
Proteoglucanos[b] CS-PG I (biglucano)	Contiene dos cadenas de GAG; se encuentra en otros tejidos
CS-PG II (decorina)	Contiene una cadena de GAG; se encuentra en otros tejidos
CS-PG III	Específica para hueso
Proteína SPARCc ósea c (osteonectina)	No específica para hueso
Osteocalcina (proteína Gla ósea)	Contiene residuos de γ-carboxiglutamato (Gla) que se unen a la hidroxiapatita. Específica para hueso
Osteopontina	No específica para hueso. Glucosilada y fosforilada
Sialoproteína ósea	Específica para hueso. Densamente glucosilada, y sulfatada en tirosina
Proteínas morfogenéticas óseas (BMP)	Una familia (8 o más) de proteínas secretadas con diversas acciones sobre el hueso; muchas inducen crecimiento óseo ectópico
Osteoprotegerina	Inhibe la osteoclastogénesis

[a] Se han atribuido diversas funciones a las proteínas no colágeno, entre ellas papeles en la mineralización; empero, casi todas aún son especulativas. Se considera poco probable que las proteínas no colágeno que no son específicas para hueso desempeñen un papel clave en la mineralización. Varias otras proteínas también están presentes en el hueso, incluso una proteína de la matriz ácida rica en tirosina (TRAMP), algunos factores de crecimiento (p. ej., TGFβ) y enzimas involucradas en la síntesis de colágeno (p. ej., lisil oxidasa).
[b] CS-PG, condroitín sulfato-proteoglucano; éstos son similares al dermatán sulfato PGs (DS-PGs) del cartílago (cuadro 50-9).
[c] SPARC, proteína secretada ácida y rica en cisteína.

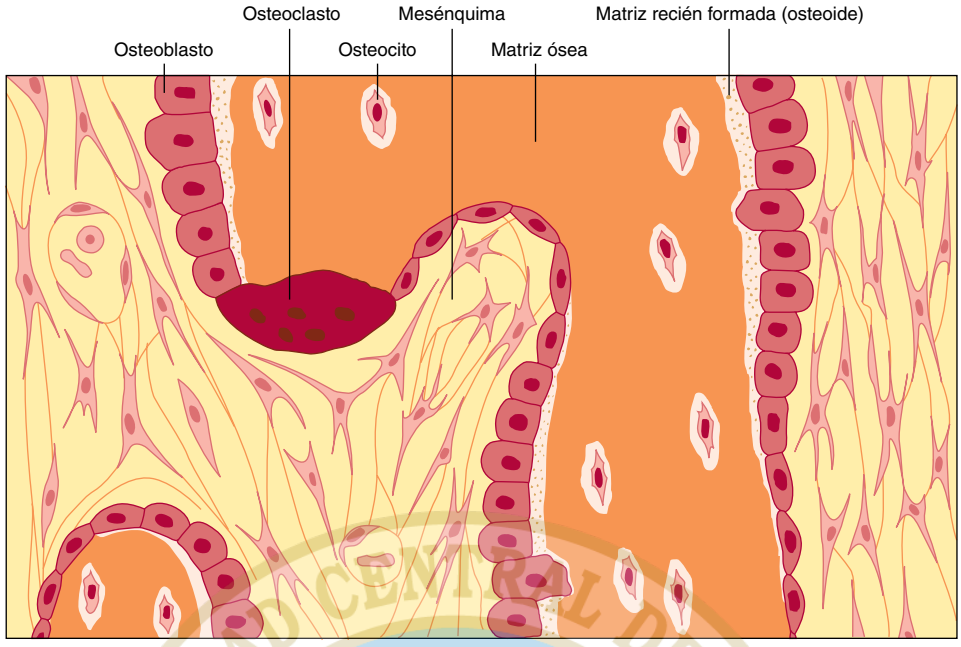


FIGURA 50-13 Ilustración esquemática de las principales células presentes en el hueso membranoso. Los osteoblastos (color más claro) están sintetizando colágeno tipo I, que forma una matriz que atrapa células. Conforme ocurre esto, los osteoblastos se diferencian gradualmente para convertirse en osteocitos. (Reproducido, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003).

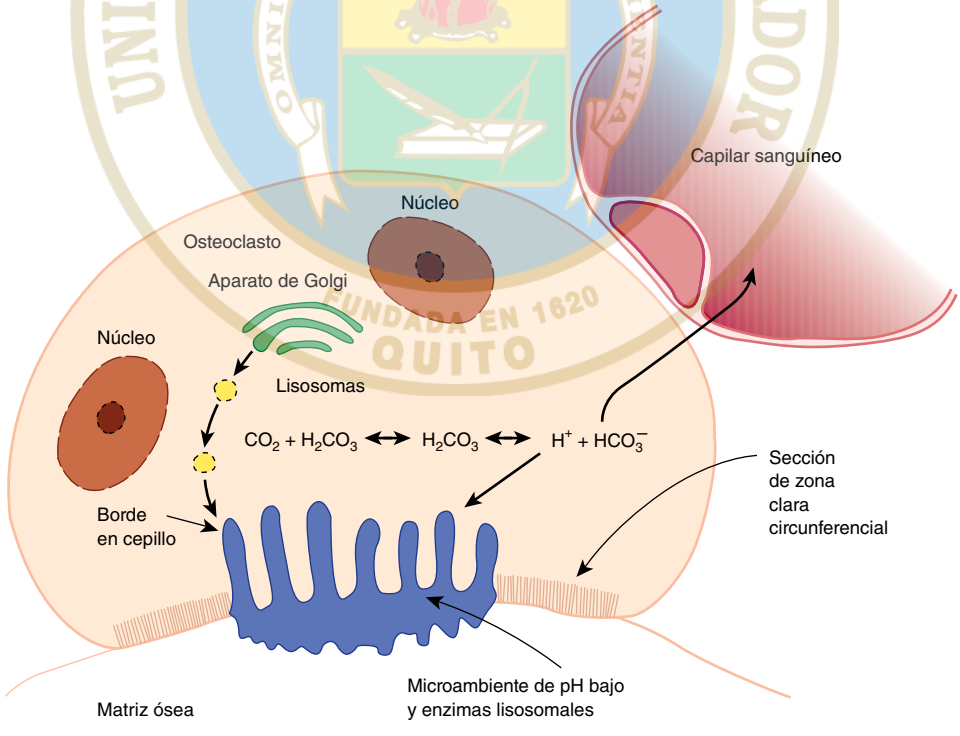


FIGURA 50-14 Ilustración esquemática de la función del osteoclasto en la resorción ósea. Enzimas lisosomales y iones de hidrógeno son liberados hacia el microambiente confinado que se crea por la fijación entre la matriz ósea y la zona clara periférica del osteoclasto. La acidificación de este espacio confinado facilita la disolución de fosfato de calcio desde el hueso, y es el pH óptimo para la actividad de hidrolasas lisosomales. De este modo se elimina la matriz ósea y los productos de la resorción ósea son captados hacia el citoplasma del osteoclasto, probablemente más digeridos y transferidos hacia capilares. La ecuación química mostrada se refiere a la acción de la anhidrasa carbónica II, descrita en el texto. (Reproducido, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003).

desmineralización. También se liberan proteasas ácidas lisosomales, como las catepsinas, para digerir las ahora accesibles proteínas de la matriz. Los **osteoblastos** (células mononucleares derivadas de precursores mesenquimatosos pluripotentes) sintetizan la mayor parte de las proteínas que se encuentran en el hueso (cuadro 50-9), así como diversos factores de crecimiento y citocinas. Se encargan del depósito de la nueva matriz ósea (osteoide) y su mineralización subsiguiente. Los osteoblastos **controlan la mineralización** al regular el paso de iones de calcio y fosfato a través de sus membranas de superficie. La **fosfatasa alcalina**, una enzima en la membrana celular, genera iones fosfato a partir de fosfatos orgánicos. Los mecanismos involucrados en la mineralización no se entienden por completo, pero varios factores han quedado implicados. La fosfatasa alcalina contribuye a la mineralización, pero es insuficiente por sí misma. También se cree que desempeñan un papel vesículas pequeñas (vesículas de la matriz) que contienen calcio y fosfato, y que se forman mediante gemación desde la membrana del osteoblasto. Además, el **colágeno tipo I** parece ser necesario; la mineralización es evidente por vez primera en los vacíos entre moléculas sucesivas. Las **fosfoproteínas ácidas**, como la **sialoproteína ósea** y la **osteopontina**, pueden actuar como sitios de nucleación. Estas proteínas contienen secuencias RGD para la fijación celular, y motivos (p. ej., tramos poli-ASP y poli-Glu) que se unen al calcio y proporcionan un andamio para la mineralización. Algunas macromoléculas, como ciertos proteoglucanos y glucoproteínas, también actúan como **inhibidores** de la nucleación.

Se estima que **anualmente se renueva** alrededor de 4% del hueso compacto en el adulto sano típico, mientras que se reemplaza aproximadamente 20% del hueso trabecular (hueso menos denso que se encuentra en los extremos de los huesos largos cerca de las articulaciones).

Muchos factores están involucrados en la **regulación del metabolismo óseo**. Algunos **estimulan osteoblastos** (p. ej., hormona paratiroidea y 1,25-dihidroxicolecalciferol [capítulo 44]) y otros los **inhiben** (p. ej., corticosteroides). La hormona paratiroidea y el 1,25-dihidroxicolecalciferol también estimulan los osteoclastos, mientras que la calcitonina y los estrógenos los inhiben.

EL HUESO QUEDA AFECTADO POR MUCHOS TRASTORNOS METABÓLICOS Y GENÉTICOS

En el **cuadro 50-10** se listan varios de los ejemplos más importantes de los trastornos metabólicos y genéticos que afectan el hueso.

La **osteogénesis imperfecta** (huesos frágiles) se caracteriza por fragilidad anormal de los huesos. Las escleróticas a menudo son anormalmente delgadas y translúcidas, y pueden tener aspecto azul debido a la deficiencia de tejido conjuntivo. Se han reconocido **ocho tipos** (I-VIII) de esta enfermedad. Los tipos I a IV se originan por mutaciones en los genes *COL1A1* o *COL1A2* o ambos. El tipo I es leve, pero el tipo II es grave, y los lactantes que nacen con la enfermedad por lo general no sobreviven. Se han documentado más de 100 mutaciones en estos dos genes, e incluyen deleciones y duplicaciones parciales de gen. Otras mutaciones afectan el empalme de RNA, y el tipo más frecuente da por resultado el **reemplazo de glicina** por otro aminoácido más voluminoso, lo cual afecta la formación de la triple hélice. En general, estas mutaciones dan por resultado expresión disminuida de colágeno, o pro cadenas estructuralmente anormales que se montan hacia **fibrillas anormales**, lo cual debilita la estructura general del hueso. Cuando hay una cadena anormal, puede interactuar con dos cadenas normales, pero quizá se evite el plegamiento, lo cual da por resultado degradación enzimática de todas las cadenas. Esto se llama **"suicidio del procolágeno"** y es un ejemplo de una mutación negativa dominante, un resultado que a menudo se observa cuando una proteína consta de múltiples subunidades diferentes. Los tipos V a VIII son menos comunes y se originan por mutaciones en los genes que codifican para las proteínas involucradas en la mineralización ósea que no son colágeno.

La **osteopetrosis** (enfermedad de los huesos de mármol), caracterizada por densidad ósea aumentada, es una enfermedad rara que se caracteriza por incapacidad para resorber hueso. Una forma ocurre junto con acidosis tubular renal y calcificación cerebral. Se debe a mutaciones en el gen (localizado en el cromosoma 8q22) que codifica para la **anhidrasa carbónica II** (CA

CUADRO 50-10 Algunas enfermedades metabólicas y genéticas que afectan el hueso y el cartílago

Enfermedad	Causas	Enfermedad	Causas
Enanismo	A menudo deficiencia de hormona de crecimiento, pero muchas otras causas	Osteoporosis	Deficiencia de estrógeno relacionada con la edad después de la menopausia, mutaciones en genes que afectan el metabolismo óseo,[a] incluso el receptor de vitamina D *(VDR),* receptor de estrógeno-α (ER-α) y *COL1A1*
Raquitismo	Deficiencia de vitamina D durante la niñez	Osteoartritis	Degeneración de cartílago relacionada con la edad, mutaciones en diversos genes[a] incluso *VDR, ER-α* y *COL2A1*
Osteomalacia	Deficiencia de vitamina D en adultos	Condrodisplasias	Mutaciones en *COL2A1*
Hiperparatiroidismo	Exceso de hormona paratiroidea que causa resorción ósea	Síndromes de Pfeiffer, Jackson-Weiss y Crouzon[b]	Mutaciones en el gen que codifica para el receptor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) 1 y/o 2
Osteogénesis imperfecta	Mutaciones en *COL1A1* y *COL1A2* que afectan la síntesis y estructura de colágeno	Acondroplasia y displasia tanatofórica[c]	Mutación del gen que codifica para FGFR3

[a] Sólo un pequeño número de casos.
[b] En los síndromes de Pfeiffer, Jackson-Weiss y Crouzon hay fusión prematura de algunos huesos en el cráneo (craneosinostosis).
[c] La displasia tanatofórica es la displasia esquelética letal neonatal más común.

II), una de cuatro isozimas de la anhidrasa carbónica presentes en tejidos de humano. La reacción catalizada por la anhidrasa carbónica es

$$CO_2 + HO_2 \leftrightarrow HO_2CO_3 \leftrightarrow HO^+ + HCO^-_3$$

En osteoclastos involucrados en la resorción ósea, la Ca II al parecer proporciona protones para neutralizar los iones OH^- que quedan dentro de la célula cuando iones H^+ son bombeados a través de sus bordes en cepillo (véase antes). De este modo, **si hay deficiencia de la actividad de CA II** en osteoclastos, no ocurre resorción normal de hueso y sobreviene osteopetrosis. El mecanismo de la calcificación cerebral no está claro, mientras que la acidosis tubular renal refleja actividad deficiente de CA II en los túbulos renales.

La **osteoporosis** es una reducción progresiva generalizada de la masa de tejido óseo por unidad de volumen, lo cual causa debilidad del esqueleto. La enfermedad tipo 1 primaria por lo general ocurre en mujeres después de la menopausia, mientras que el tipo 2 primario u osteoporosis senil ocurre en ambos sexos después de los 75 años de edad, aunque es más prevalente en mujeres (proporción mujeres:varones, 2:1). La proporción entre **elementos minerales** y **orgánicos** no cambia en el hueso normal restante. Ocurren muy fácilmente fracturas de diversos huesos, como la cabeza del fémur, y representan una enorme carga tanto para los pacientes afectados como para el presupuesto de la sociedad para el cuidado de la salud. Entre otros factores, los **estrógenos** y las citocinas **interleucinas 1 y 6** parecen estar íntimamente involucrados en la causa de la osteoporosis.

LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL CARTÍLAGO SON COLÁGENO TIPO II Y CIERTOS PROTEOGLUCANOS

En el **cuadro 50-11** se listan las **principales proteínas** del **cartílago hialino** (el principal tipo de cartílago). El **colágeno tipo II** es la proteína principal (**figura 50-15**) y hay también varios otros tipos menores de colágeno. Además de estos componentes, el cartílago elástico contiene elastina, y el cartílago fibroelástico contiene colágeno tipo I. El cartílago contiene varios **proteoglucanos**, que desempeñan una función importante en su compresibilidad. El **agrecano** (aproximadamente 2×10^3 kDa) es el principal proteoglucano. Tiene una estructura muy compleja que contiene varios GAG (ácido hialurónico, condroitín sulfato, y queratán sulfato) y proteínas tanto de enlace como centrales (**figura 50-16**). La proteína central contiene tres dominios: A, B y C. El ácido hialurónico se une de manera no covalente al dominio A de la proteína central, así como a la proteína de enlace, que estabiliza las interacciones hialuronato-proteína central. Las cadenas de queratán sulfato están situadas en el dominio B, mientras que las cadenas de condroitín sulfato están ubicadas en el dominio C; estos dos tipos de GAG están unidos de modo covalente a la proteína central. Esta última también contiene cadenas de oligosacáridos tanto *O*-enlazadas como *N*-enlazadas.

Los otros proteoglucanos que se encuentran en el cartílago tienen estructura más simple que el agrecano.

La **condronectina** está involucrada en la fijación del colágeno tipo II a condrocitos (las células en el cartílago).

CUADRO 50-11 Principales proteínas que se encuentran en el cartílago

Proteínas	Comentarios
Proteínas de colágeno	
Colágeno tipo II	90 a 98% del colágeno total del cartílago articular. Compuesto de tres cadenas α1(II)
Colágenos V, VI, IX, X, XI	El colágeno tipo IX forma enlaces covalentes con el colágeno tipo II El tipo XI quizás ayude a controlar el diámetro de fibrillas tipo II
Proteínas no colágeno	
Proteoglucanos	El principal proteoglucano del cartílago
Agrecano	Se encuentra en algunos tipos de cartílago
Proteoglucano no agregante grande	
DS-PG I (biglucano)[a]	Similar al CS-PG I del hueso
DS-PG II (decorina)	Similar al CS-PG II del hueso
Condronectina	Quizás esté implicado en la unión del colágeno tipo II a la superficie del cartílago
Anchorina C II	Quizá una el colágeno tipo II a la superficie del condrocito

[a] Las proteínas centrales de DS-PG I y DS-PG II son homólogas a las de CS-PG I y CS-PG II que se encuentran en el hueso (cuadro 50-11). Una explicación posible es que el osteoblasto inhibe la epimerasa requerida para convertir ácido glucurónico en ácido idurónico, el segundo de los cuales se encuentra en el dermatán sulfato.

El cartílago es un tejido avascular y obtiene la mayor parte de sus nutrientes a partir del líquido sinovial. Muestra **recambio** lento pero continuo. Diversas **proteasas** (p. ej., colagenasas y estromelisina) sintetizadas por los condrocitos pueden **degradar colágeno** y las otras proteínas que se encuentran en el cartílago. La interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral α (TNFα) parecen estimular la producción de ese tipo de proteasas, mientras que el factor de crecimiento transformante β (TGFβ) y el factor de crecimiento tipo insulina I (IGF-I) por lo general ejercen una influencia anabólica sobre el cartílago.

LAS CONDRODISPLASIAS SON CAUSADAS POR MUTACIONES EN GENES QUE CODIFICAN PARA COLÁGENO TIPO II Y RECEPTORES DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS

Las condrodisplasias son un grupo mixto de trastornos hereditarios que afectan el cartílago. Se manifiestan por enanismo de extremidades cortas, y muchas deformidades del esqueleto. Varias de ellas se deben a diversas mutaciones en el gen *COL2A1*, que llevan a formas anormales de colágeno tipo II. Un ejemplo es el **síndrome de Stickler**, que se manifiesta por degeneración del cartílago articular y del cuerpo vítreo del ojo.

La mejor conocida de las condrodisplasias es la **acondroplasia**, la causa más común de **enanismo de extremidades cortas**. Los individuos afectados tienen extremidades cortas, tamaño normal del tronco, macrocefalia y varias otras anormalidades del

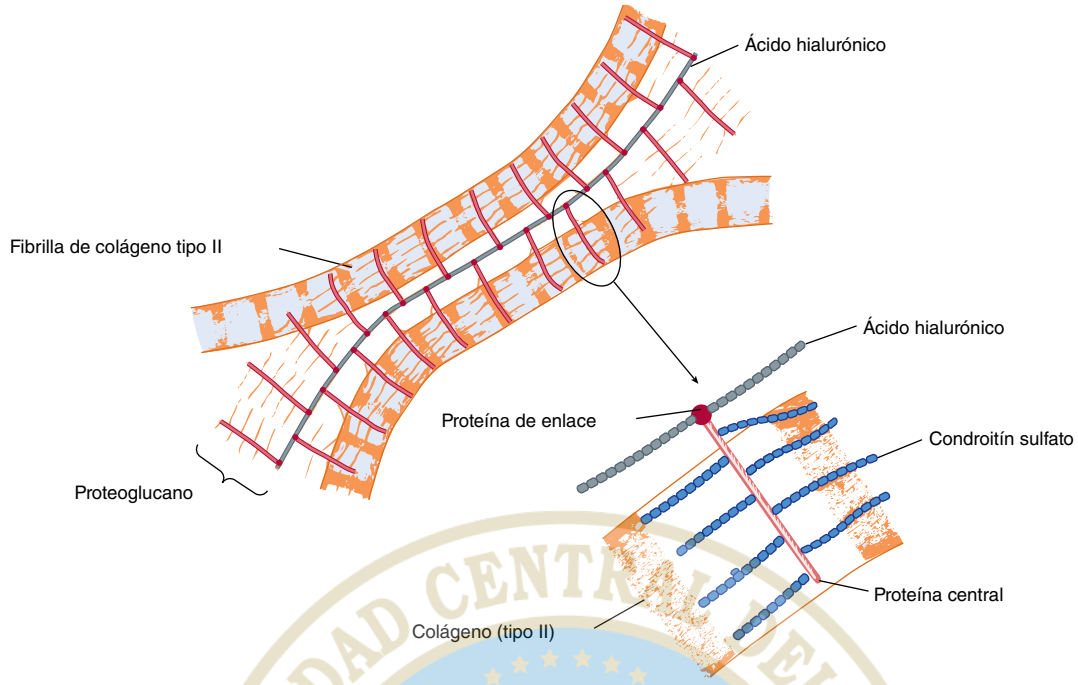


FIGURA 50-15 Representación esquemática de la organización molecular en la matriz del cartílago. Las proteínas de enlace unen de modo no covalente la proteína central (rojo) de proteoglucanos a las moléculas de ácido hialurónico lineales (gris). Las cadenas laterales de condroitín sulfato del proteoglucano se unen electrostáticamente a las fibrillas de colágeno, y forman una matriz con enlaces covalentes. El óvalo esboza el área agrandada en la parte inferior de la figura. (Reproducido, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003).

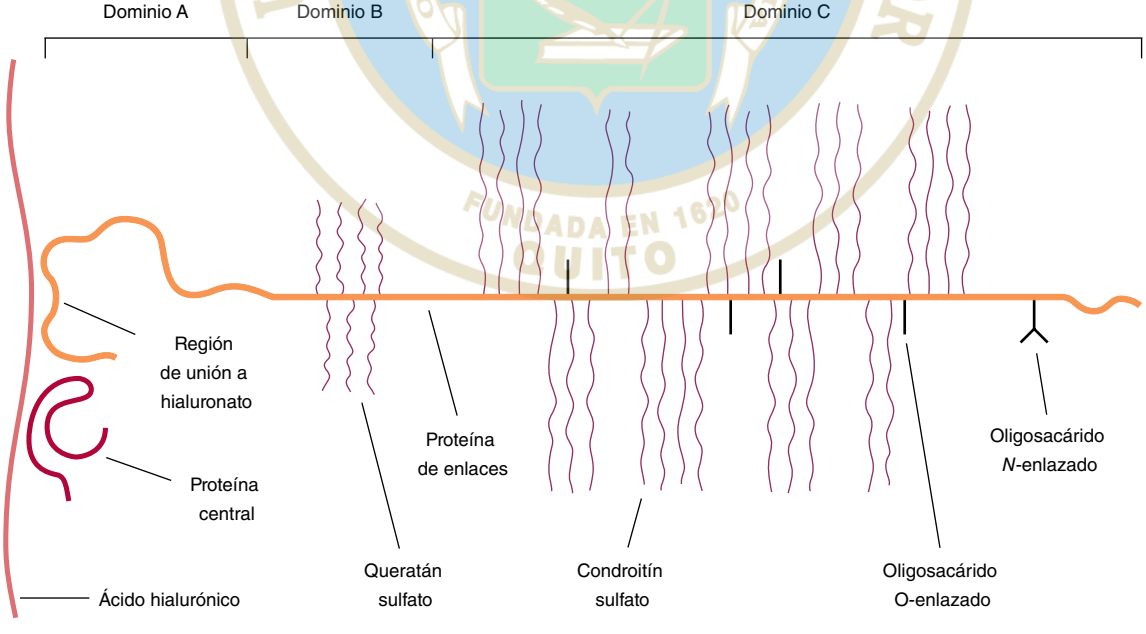


FIGURA 50-16 Diagrama esquemático del agrecano de cartílago nasal bovino. A la izquierda se muestra una cadena de ácido hialurónico. La proteína central (alrededor de 210 kDa) tiene tres dominios principales. El dominio A, en su extremo amino terminal, interactúa con alrededor de cinco disacáridos repetitivos en el hialuronato. La proteína de enlace interactúa tanto con hialuronato como con el dominio A, y estabiliza sus interacciones. Alrededor de 30 cadenas de queratán sulfato están fijas, por medio de enlaces GalNAc-Ser, al dominio B. El dominio C contiene aproximadamente 100 cadenas de condroitín sulfato unidas mediante enlaces Gal-Gal-Xil-Ser, y alrededor de 40 cadenas de oligosacárido *O*-enlazadas. También se encuentran una o más cadenas de glucano *N*-enlazadas cerca del carboxilo terminal de la proteína central. (Moran LA, et al: *Biochemistry*, 2nd ed., © 1994, pp. 9–43. Adaptado, con autorización, de Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, NJ.)

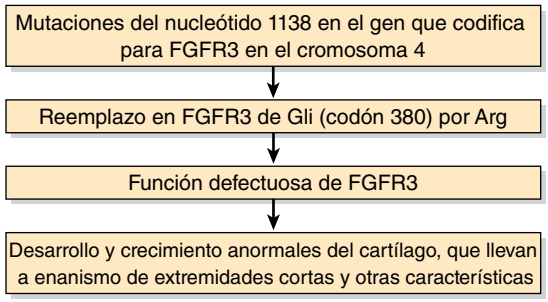


FIGURA 50-17 Esquema simplificado de la causa de acondroplasia. En la mayor parte de los casos estudiados hasta ahora, la mutación ha sido una transición de G a A en el nucleótido 1138, que da por resultado reemplazo de un residuo de Gli por un residuo de Arg en el segmento transmembrana del receptor.

esqueleto. La enfermedad a menudo se hereda como un rasgo autosómico dominante, pero muchos casos se deben a mutaciones nuevas. En la **figura 50-17** se esboza la base molecular de la acondroplasia. La acondroplasia no es un trastorno del colágeno, sino que se debe a mutaciones en el gen que codifica para el **receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 3 (FGFR3)**. Los **factores de crecimiento de fibroblastos** son una familia de más de 20 proteínas que afectan el crecimiento y la diferenciación de células de origen mesenquimatoso y neuroectodérmico; estos **receptores** son proteínas transmembrana y forman un subgrupo de cuatro en la familia de tirosina cinasas receptoras. El FGFR3 es un miembro de este subgrupo y media las acciones del FGF3 sobre el cartílago. En la mayor parte de los casos de acondroplasia que se han investigado, se encontró que las mutaciones afectaron el nucleótido 1138 y dieron lugar a la sustitución de glicina por arginina (residuo número 380) en el dominio transmembrana de la proteína, lo que la hizo inactiva. En individuos no afectados no se encontró esa mutación.

Es más bien sorprendente que otras mutaciones en el mismo gen pueden dar por resultado **hipocondroplasia**, **displasia tanatofórica** (tipos I y II) (otras formas de enanismo de extremidades cortas), y el **fenotipo SADDAN** (acondroplasia grave con retraso del desarrollo y acantosis *nigricans* [esta última es una hiperpigmentación parda a negra de la piel]).

Otras displasias esqueléticas (incluso ciertos síndromes de craneosinostosis) también se deben a mutaciones en genes que codifican para receptores de FGF (cuadro 50-10). Se ha encontrado que otro tipo de displasia esquelética, la **displasia diastrófica** se debe a mutación en un transportador de sulfato.

RESUMEN

- Los principales componentes de la ECM son las proteínas estructurales colágeno, elastina y fibrilina-1, varias proteínas especializadas (p. ej., fibronectina y laminina) y diversos proteoglucanos.
- El colágeno es la proteína más abundante en el reino animal; se han aislado alrededor de 28 tipos. Todos los colágenos contienen tramos mayores o menores de triple hélice, y la estructura repetitiva (Gli-X-Y)*n*.
- La biosíntesis de colágeno es compleja; comprende muchos eventos postraduccionales, incluso hidroxilación de prolina y lisina.
- Las enfermedades asociadas con síntesis alterada de colágeno son escorbuto, osteogénesis imperfecta, síndrome de Ehlers-Danlos (6 subtipos) y enfermedad de Menkes.
- La elastina confiere extensibilidad y retroceso elástico a los tejidos. La elastina carece de hidroxilisina, secuencias Gli-X-Y, estructura de triple hélice y azúcares, pero contiene enlaces covalentes de desmosina e isodesmosina que no se encuentran en el colágeno.
- La fibrilina-1 se encuentra en microfibrillas. Las mutaciones en el gen que codifica para fibrilina-1 causan síndrome de Marfan. La citocina TGF-β parece contribuir a la enfermedad cardiovascular.
- Los glucosaminoglucanos (GAG) están constituidos de disacáridos repetitivos que contienen un ácido urónico (glucurónico o idurónico) o hexosa (galactosa) y una hexosamina (galactosamina o glucosamina). También suele haber sulfato.
- Los principales GAG son el ácido hialurónico, condroitín 4- y 6-sulfatos, queratán sulfatos I y II, heparina, heparán sulfato y dermatán sulfato.
- Los GAG son sintetizados por las acciones secuenciales de una batería de enzimas específicas (glucosiltransferasas, epimerasas, sulfotransferasas, etc.) y son degradados por la acción secuencial de hidrolasas lisosomales. Las deficiencias genéticas de estas últimas dan por resultado mucopolisacaridosis (p. ej., el síndrome de Hurler).
- Los GAG se encuentran en los tejidos unidos a diversas proteínas (proteínas en las adoras y proteínas centrales) que constituyen proteoglucanos. Estas estructuras a menudo tienen peso molecular muy alto y desempeñan muchas funciones en los tejidos.
- Muchos componentes de la ECM se unen a proteínas de la superficie celular llamadas integrinas; esto constituye una vía mediante la cual el exterior de las células puede comunicarse con el interior.
- Tanto el hueso como el cartílago son formas especializadas de ECM. El colágeno I y la hidroxiapatita son los principales constituyentes del hueso. El colágeno II y ciertos proteoglucanos son constituyentes importantes del cartílago.
- Varias enfermedades hereditarias del hueso (p. ej., osteogénesis imperfecta) y del cartílago (p. ej., las condrodistrofias) son causadas por mutaciones en los genes que codifican para colágeno y proteínas involucradas en la mineralización ósea y la formación de cartílago.

REFERENCIAS

Baldridge D, Shchelochkov O, Kelley B, Lee B: Signaling pathways in human skeletal dysplasias. Annu Rev Genomics Human Genet 2010;11:189.

Couchman JR: Transmembrane signaling proteoglycans. Annu Rev Cell Develop Biol 2010;26:89.

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, *et al*: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. McGrawHill, 2008. (Chapter 357, Heritable Disorders of Connective Tissue; Chapter 355, Lysosomal Storage Diseases; Chapter 326, Osteoarthritis; Chapter 346, Bone and Mineral Metabolism in Health and Disease; Chapter 349, Paget Disease and Other Dysplasias of Bone).

Kadler KE, Baldock C, Bella J, Boot-Handford RP: Collagens at a glance. J Cell Sci 2007;120:1955.

Karsenty G, Kronenberg HM, Settembre C: Genetic control of bone formation. Ann Rev Cell Develop Biol 2009;25:629.

Khosla S, Westendorf JJ, Oursler MJ: Building bone to reverse osteoporosis and repair fractures. J Clin Invest 2008;118:421.

Muiznieks LD, Keeley FW: Molecular assembly and mechanical properties of the extracellular matrix: a fibrous protein perspective. Biochim Biophys Acta 2013;1832:866.

Neufeld EF: From serendipity to therapy. Annu Rev Biochem 2011;80. (Describes pioneering work on the causes and treatment of mucopolysaccharidoses).

Rowe RG, Weiss SJ: Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell–stroma interface. Annu Rev Cell Develop Biol 2009;25:567.

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (This comprehensive four-volume text and the updated online version [see Chapter 1] contain chapters on disorders of collagen biosynthesis and structure, Marfan syndrome, the mucopolysaccharidoses, achondroplasia, Alport syndrome, and craniosynostosis syndromes).

Shoulders MD, Raines RT: Collagen structure and stability. Ann Rev Biochem 2009;78:929.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 51

Músculo y citoesqueleto

Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender las características bioquímicas generales de la contracción de los músculos esquelético, cardíaco y liso.
- Conocer los efectos biológicos del óxido nítrico (NO).
- Explicar los diferentes combustibles metabólicos requeridos para un *sprint* y para el maratón.
- Conocer las estructuras y funciones generales de los principales componentes del citoesqueleto, a saber: microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios.
- Comprender las bases de la hipertermia maligna, las distrofias musculares de Duchenne y Becker, cardiomiopatías hereditarias, el síndrome de Hutchinson-Gilford (progeria) y varias enfermedades de la piel debidas a queratinas anormales.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas tienen importancia en el **movimiento** en los ámbitos tanto de órgano (p. ej., músculo esquelético, corazón e intestino) como celular. En este capítulo, se describen las funciones de proteínas específicas y algunas otras moléculas clave (p. ej., Ca^{2+}) en la **contracción muscular**. También se presenta una breve cobertura de las **proteínas citoesqueléticas.**

El conocimiento de la base molecular de varias enfermedades que afectan el músculo ha avanzado mucho durante los últimos años. El entendimiento de la base molecular de la **distrofia muscular tipo Duchenne** aumentó mucho cuando se encontró que se debía a mutaciones del gen que codifica para distrofina. También se ha logrado progreso importante en el entendimiento de la base molecular de la **hipertermia maligna**, una seria complicación en algunos pacientes que reciben ciertos tipos de anestesia. La **insuficiencia cardíaca** es una enfermedad médica muy frecuente, con diversas causas; su terapia racional exige entendimiento de las características bioquímicas del músculo cardíaco. Un grupo de enfermedades que causa insuficiencia cardíaca son las **miocardiopatías**, algunas de las cuales están determinadas por mecanismos genéticos. Se ha encontrado que el óxido nítrico (NO) es un importante regulador del tono del músculo liso. Muchos **vasodilatadores** ampliamente usados (como la nitroglicerina, que se utiliza en el tratamiento de angina de pecho) actúan al aumentar la formación de NO. El músculo, debido en parte a su masa, desempeña funciones importantes en el **metabolismo general** del organismo.

EL MÚSCULO TRANSDUCE ENERGÍA QUÍMICA HACIA ENERGÍA MECÁNICA

El músculo es el principal **transductor** bioquímico (máquina) que convierte energía potencial (química) en energía cinética (mecánica). El músculo, el tejido único de mayor tamaño en el cuerpo del ser humano, constituye poco menos de 25% de la masa corporal en el momento del nacimiento, más de 40% en el adulto joven y poco menos de 30% en el adulto de edad avanzada. Se comentarán aspectos de los tres tipos de músculo que se encuentran en vertebrados: **esquelético**, **cardíaco** y **liso**. El músculo tanto esquelético como cardíaco tiene aspecto **estriado** en la observación al microscopio; el músculo liso es **no estriado**. Si bien el músculo esquelético está bajo el control nervioso voluntario, el control de los músculos tanto cardíaco como liso es involuntario.

El sarcoplasma de las células musculares contiene ATP, fosfocreatina y enzimas glucolíticas

El músculo estriado está compuesto por células de fibras musculares multinucleadas rodeadas por una membrana plasmática eléctricamente excitable, el **sarcolema**. Una célula de fibra muscular individual, que puede extenderse por toda la longitud del músculo, contiene un fascículo de muchas **miofibrillas** dispuestas en paralelo, embebidas en el líquido intracelular llamado **sarcoplasma**. Dentro de este líquido hay glucógeno, los compuestos de alta energía ATP y fosfocreatina y enzimas de la glucólisis.

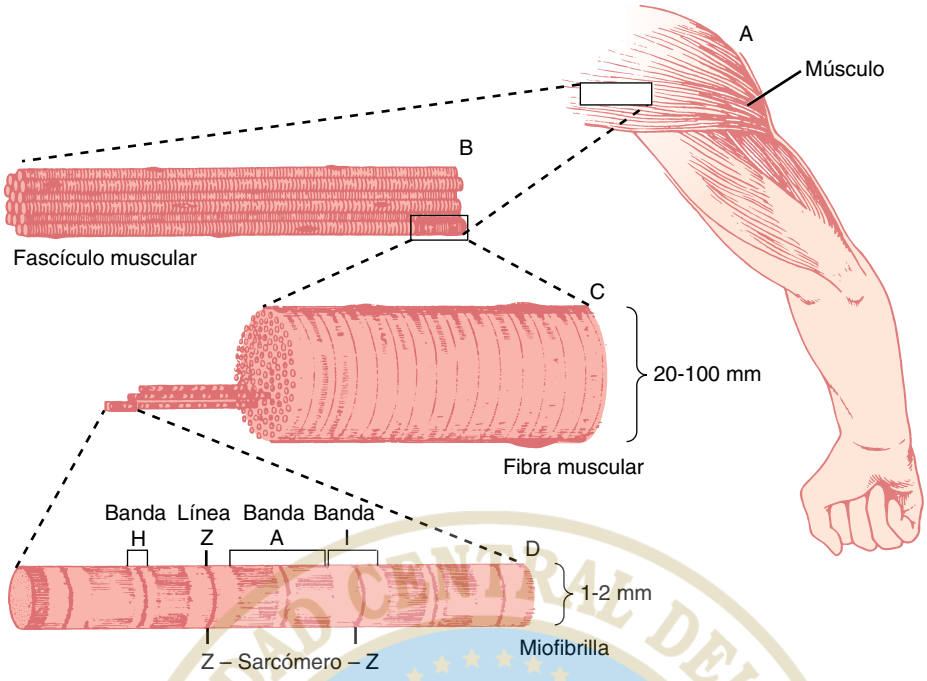


FIGURA 51-1 **Estructura del músculo voluntario.** El sarcómero es la región entre las líneas Z. (Dibujado por Sylvia Colard Keene. Reproducido, con autorización, de Bloom W, Fawcett DW: A *Textbook of Histology*, 10th ed. Saunders, 1975).

El sarcómero es la unidad funcional del músculo

En la **figura 51-1** se presenta una perspectiva general del músculo voluntario en varios niveles de organización.

Cuando la **miofibrilla** se examina mediante microscopia electrónica, pueden observarse bandas oscuras y claras alternantes (bandas anisotrópicas, que significa birrefringentes en la luz polarizada, y bandas isotrópicas, que significa no alteradas por la luz polarizada). Así, estas bandas se denominan **bandas A e I**, respectivamente. La región central de la banda A (la banda H) tiene aspecto menos denso que el resto de la banda. La banda I está bisecada por una **línea Z** muy densa y estrecha (**figura 51-2**).

El **sarcómero** se define como la región entre dos líneas Z (figuras 51-1 y 51-2) y se repite a lo largo del eje de una fibrilla a distancias de 1 500 a 2 300 nm dependiendo de la etapa de la contracción.

El aspecto **estriado** de los músculos voluntario y cardíaco en estudios con microscopia óptica depende de su alto grado de organización, en la cual la mayor parte de las células de la fibra muscular están alineadas de modo que sus sarcómeros se encuentran en registro paralelo (figura 51-1).

Los filamentos gruesos contienen miosina, y los delgados, actina, tropomiosina y troponina

Cuando se examinan **miofibrillas** mediante microscopia electrónica, parece ser que cada una está construida por dos tipos de filamentos longitudinales. Un tipo, el **filamento grueso**, confinado a la banda A, contiene principalmente la proteína miosina. Estos filamentos tienen alrededor de 16 nm de diámetro, y están dispuestos en el corte transversal en forma hexagonal (figura 51-2, centro; corte transversal del lado derecho).

El **filamento delgado** (de alrededor de 7 nm de diámetro) yace en la banda I y se extiende hacia la banda A pero no hacia su zona H (figura 51-2). Los filamentos delgados contienen las proteínas actina, tropomiosina y troponina (**figura 51-3**). En la banda A, los filamentos delgados están dispuestos alrededor del filamento grueso (miosina) como una disposición hexagonal secundaria. Cada filamento delgado yace de manera simétrica entre tres filamentos gruesos (figura 51-2, centro; corte transversal de en medio) y cada filamento grueso está rodeado de manera simétrica por seis filamentos delgados.

Los filamentos grueso y delgado interactúan por medio de **puentes transversales** que surgen a intervalos de 14 nm a lo largo de los filamentos gruesos. Los puentes transversales (figura 51-2, dibujados como puntas de flecha en cada extremo de los filamentos de miosina, pero no mostrados extendiéndose por completo a través de los filamentos delgados) tienen polaridades opuestas en los dos extremos de los filamentos gruesos. Los dos polos de los filamentos gruesos están separados por un segmento de 150 nm (la banda M, no marcada en la figura) que está libre de proyecciones.

El modelo de puente transversal de filamento deslizante es el fundamento del pensamiento actual acerca de la contracción muscular

Este modelo fue propuesto de manera independiente durante el decenio de 1950-1959 por Henry Huxley y Andrew Huxley y sus colegas. Se basó en gran parte en observaciones morfológicas cuidadosas en músculo en reposo, extendido y en contracción. Básicamente, cuando el músculo se contrae, no hay cambio de la longitud de los filamentos gruesos y delgados, pero las zonas H

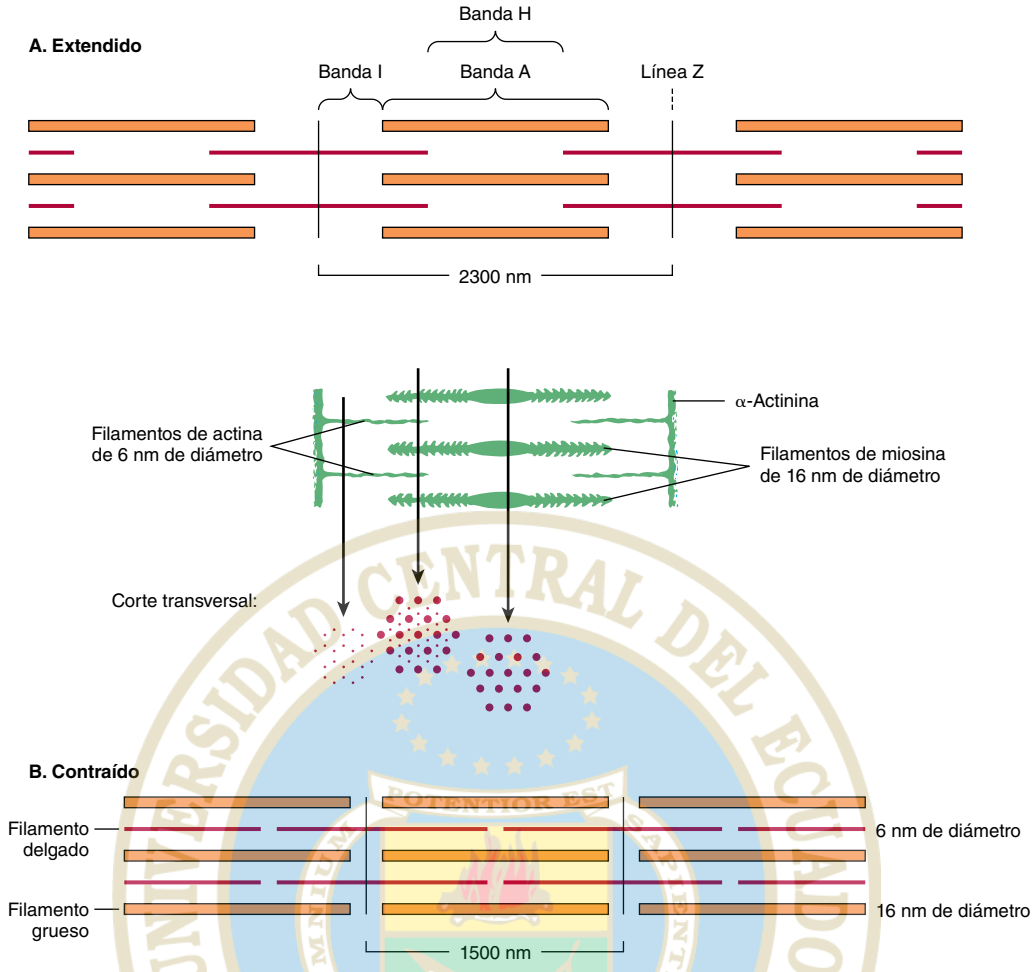


FIGURA 51-2 Disposición de los filamentos en el músculo estriado. (**A**) Extendido. Se muestran las posiciones de las bandas I, A y H en el estado extendido. Los filamentos delgados se superponen en parte con los extremos de los filamentos gruesos, y los filamentos delgados se muestran fijos a las líneas Z (a menudo llamadas discos Z). En la parte inferior de la figura 51-2A hay "puntas de flecha", que apuntan en direcciones opuestas y que emanan de los filamentos de miosina (gruesos). Se observan cuatro filamentos de actina (delgados) fijos a dos líneas Z mediante α-actinina. La región central de los tres filamentos de miosina, libre de puntas de flecha, se llama la banda M (no marcada). Se muestran cortes transversales a través de las bandas M, a lo largo de un área donde los filamentos de miosina y actina se superponen, y de un área en la cual sólo hay filamentos de actina. (**B**) Contraído. Se observa que los filamentos de actina se han deslizado uno hacia otro a lo largo de los lados de las fibras de miosina. Las longitudes de los filamentos gruesos (indicadas por las bandas A) y los filamentos delgados (distancia entre las zonas Z y los bordes adyacentes de las bandas H) no han cambiado. Con todo, las longitudes de los sarcómeros se han reducido (desde 2 300 nm hasta 1 500 nm), al igual que las de las bandas H e I debido a la superposición entre los filamentos grueso y delgado. Estas observaciones morfológicas proporcionaron parte de la base para el modelo del filamento deslizante de la contracción muscular.

y las bandas I se acortan (véase el pie de la figura 51-2). Así, las disposiciones de filamentos interdigitados deben **deslizarse más allá una de otra** durante la contracción. Los **puentes transversales** que enlazan filamentos gruesos y delgados en ciertas etapas del ciclo de contracción generan la tensión y la sostienen. La tensión creada durante la contracción muscular es proporcional a la superposición de filamento y al número de puentes transversales. Cada cabeza de puente transversal está conectada al filamento grueso por medio de un segmento fibroso flexible que se puede flexionar hacia afuera desde el filamento grueso. Este segmento flexible facilita el contacto de la cabeza con el filamento delgado cuando es necesario, pero también es suficientemente flexible como para adaptarse en el espacio interfilamento.

LA ACTINA Y LA MIOSINA SON LAS PRINCIPALES PROTEÍNAS DEL MÚSCULO

La masa de un músculo está constituida por 75% de agua y más de 20% de proteína. Las dos proteínas principales son la actina y la miosina.

La **actina G** monomérica (43 kDa; G, globular) constituye 25% de la proteína muscular por peso. A fuerza iónica fisiológica y en presencia de Mg^{2+}, la actina G se polimeriza de modo no covalente para formar un doble filamento helicoidal insoluble llamado actina F (figura 51-3). La fibra de **actina F** tiene 6 a 7 nm de grosor y una estructura repetitiva cada 35.5 nm.

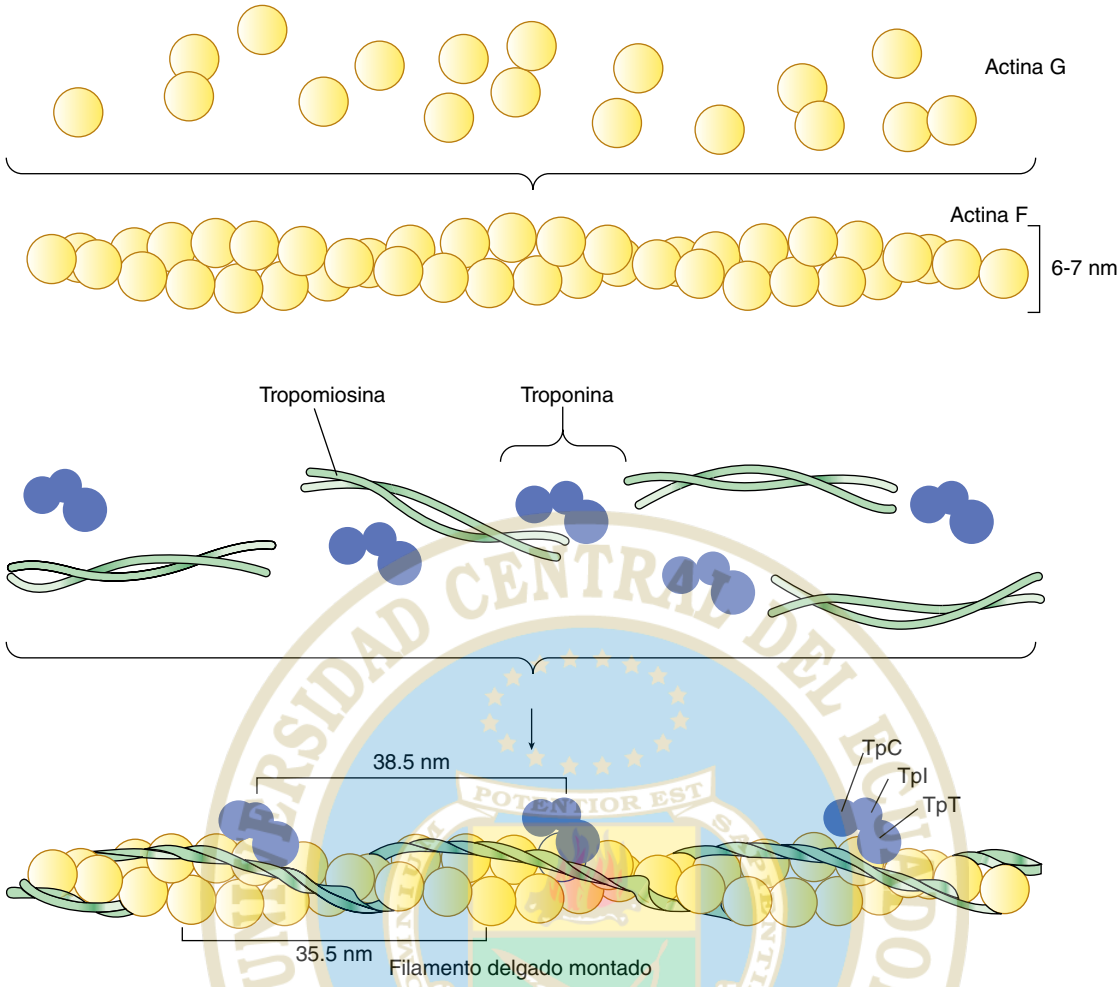


FIGURA 51-3 Representación esquemática del filamento delgado, que muestra la configuración espacial de sus tres componentes proteínicos principales: actina, miosina y tropomiosina. El panel superior muestra moléculas individuales de actina G. El panel de en medio muestra monómeros de actina montados hacia actina F. También se muestran moléculas individuales de tropomiosina (dos cadenas que giran una alrededor de la otra) y de troponina (constituidas por tres subunidades). El panel inferior muestra el filamento delgado montado, que consta de actina F, tropomiosina y las tres subunidades de troponina (TpC, TpI y TpT).

Las **miosinas** constituyen una familia de proteínas; se han identificado al menos 12 clases en el genoma del humano. La miosina que se comenta en este capítulo es la **miosina-II**, y cuando se hace referencia a la miosina en este libro, se alude a esta especie a menos que se indique lo contrario. La miosina-I es una especie monomérica que se une a las membranas celulares. Puede servir como un enlace entre microfilamentos y la membrana celular en ciertas ubicaciones.

La **miosina** contribuye con 55% de la proteína muscular por peso, y forma los **filamentos gruesos**. Es un hexámero asimétrico con una masa molecular de aproximadamente 460 kDa. La miosina tiene una cola fibrosa que consta de dos hélices entrelazadas. Cada hélice tiene una porción de cabeza globular fija en un extremo (**figura 51-4**). El hexámero consta de un par de **cadenas pesadas (H,** *heavy*), cada una con una masa molecular de aproximadamente 200 kDA, y dos pares de **cadenas ligeras (L,** *light*), cada una con una masa molecular de alrededor de 20 kDA. Las cadenas L difieren; una se denomina la cadena ligera **esencial** y la otra la cadena ligera **reguladora**. La miosina del músculo esquelético se une a la actina para formar **actomiosina** (actina-miosina), y su actividad de ATPasa intrínseca está notoriamente aumentada en este complejo. Hay isoformas de miosina cuyas cantidades pueden variar en diferentes situaciones anatómicas, fisiológicas y patológicas.

Las estructuras de la actina y de la cabeza de miosina se han determinado mediante cristalografía con rayos X; estos estudios han confirmado varios datos más tempranos respecto a sus estructuras y han dado lugar también a mucha información nueva.

La digestión limitada de miosina con proteasas ha ayudado a dilucidar su estructura y función

Cuando la miosina se digiere con **tripsina**, se generan dos fragmentos de miosina (meromiosinas). La **meromiosina ligera** (LMM) consta de fibras helicoidales α insolubles, agregadas, desde la cola de miosina (figura 51-4). La LMM no muestra actividad de ATPasa, y no se une a la actina F.

La **meromiosina pesada** (HMM; masa molecular de alrededor de 340 kDa) es una proteína soluble que tiene tanto una porción fibrosa como una porción globular (figura 51-4). Muestra

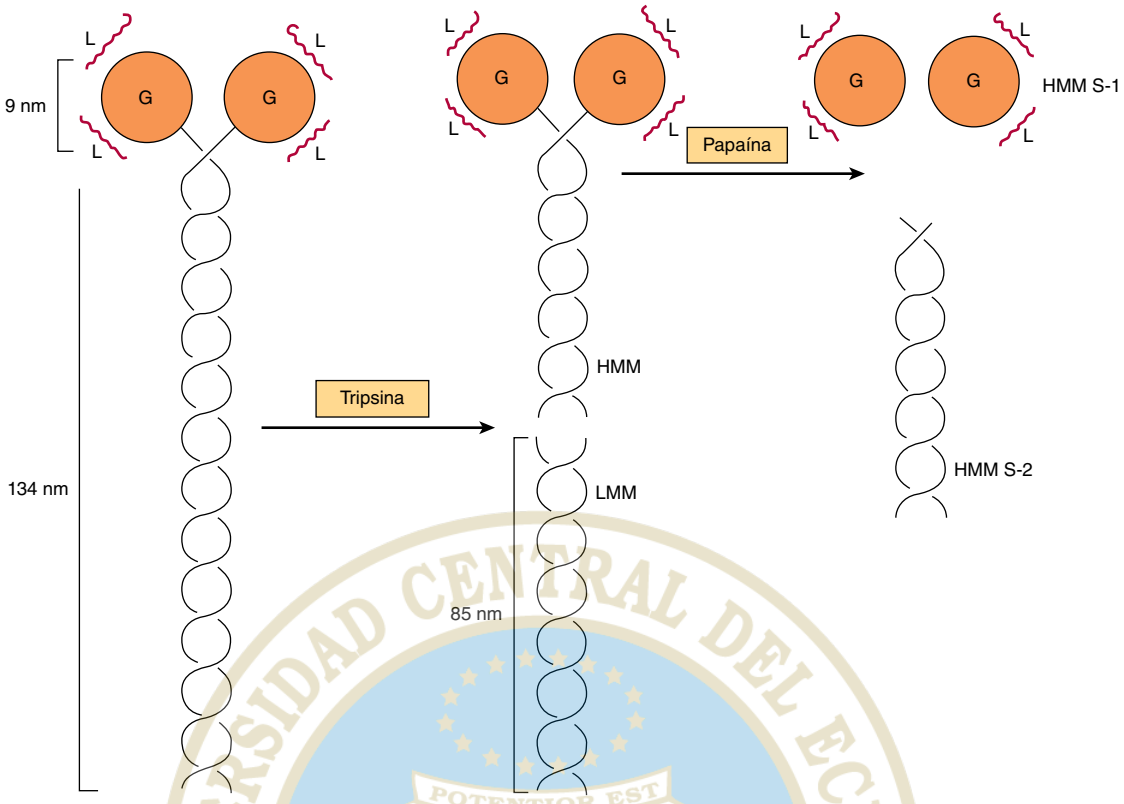


FIGURA 51-4 Diagrama de una molécula de miosina que muestra las dos hélices α entremezcladas (porción fibrosa), la región globular de la cabeza (G), las cadenas ligeras (L), y los efectos de la división proteolítica por tripsina y papaína. La región globular (cabeza de miosina) contiene un sitio de unión a actina y un sitio de unión a cadena L, y se fija también al resto de la molécula de miosina.

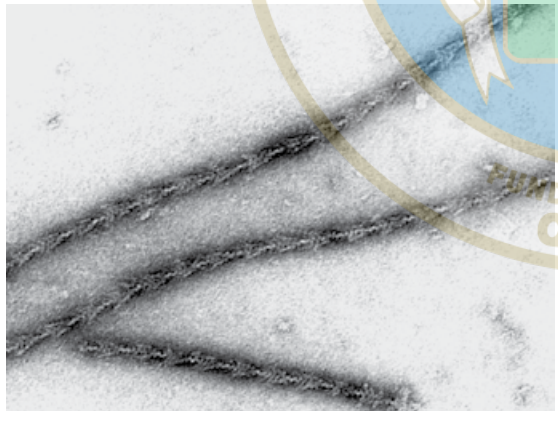


FIGURA 51-5 La decoración de filamentos de actina con los fragmentos S-1 de miosina para formar "puntas de flecha". (Cortesía de JA Spudich).

actividad de **ATPasa** y se une a la actina F. La digestión de la HMM con **papaína** genera dos subfragmentos, S-1 y S-2. El fragmento S-2 es de carácter fibroso, carece de actividad de ATPasa, y no se une a la actina F.

El **S-1** (masa molecular de aproximadamente 115 kDa) muestra actividad de ATPasa, se une a cadenas L, y en ausencia de ATP se unirá a actina y la decorará con "puntas de flecha" (**figura 51-5**). Tanto S-1 como HMM muestran actividad de **ATPasa,** que se acelera 100 a 200 veces al formar complejos con actina F. La actina F aumenta mucho el índice al cual la ATPasa de miosina libera sus productos, ADP y P_i (véase más adelante). De esta manera, aunque la **actina F** no afecta el paso de hidrólisis en sí, su capacidad para **promover la liberación** de los productos sintetizados por la actividad de ATPasa acelera mucho el índice general de catálisis.

LOS CAMBIOS EN LA CONFORMACIÓN DE LA CABEZA DE MIOSINA IMPULSAN LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

¿De qué modo la hidrólisis del ATP puede producir movimiento macroscópico? La contracción muscular consta en esencia de **la fijación y el desprendimiento** cíclicos de la cabeza S-1 de miosina a los filamentos de actina F. Este proceso también puede denominarse la formación y rotura de puentes transversales. La fijación de actina a la miosina va seguida por **cambios conformacionales** que tienen particular importancia en la cabeza S-1, y dependen de cuál nucleótido está presente (ADP o ATP). Tales cambios dan por resultado el **golpe de potencia**, que impulsa el movimiento de filamentos de actina más allá de los filamentos de miosina. La energía para el golpe de potencia finalmente es proporcionada por el **ATP**, que se hidroliza hacia ADP y P_i. Sin embargo, el golpe de potencia en sí ocurre como resultado de **cambios conformacionales** en la cabeza de miosina que ocurre cuando el **ADP** se disocia.

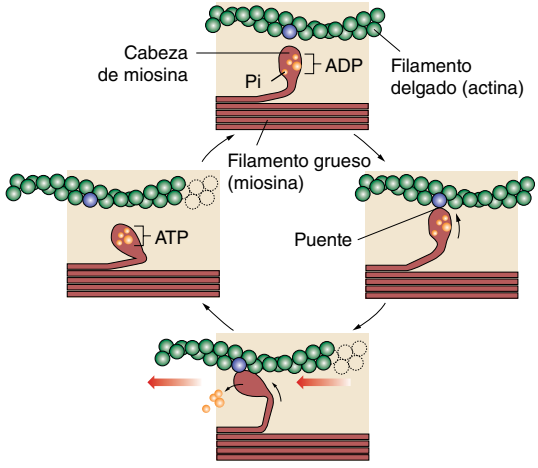


FIGURA 51-6 La hidrólisis de ATP impulsa la asociación y disociación cíclicas de actina y miosina en cinco reacciones descritas en el texto. (Reproducido, con autorización, de McGraw-Hill Higher Education).

Los principales eventos bioquímicos que ocurren durante un ciclo de contracción y relajación musculares pueden representarse en los cinco pasos que se muestran en la **figura 51-6** y son como sigue:

1. En la **fase de relajación** de la contracción muscular, la cabeza de miosina S-1 hidroliza ATP hacia ADP y P_i, pero estos productos permanecen unidos. El complejo ADP-P_i-miosina resultante se ha energizado y se encuentra en una conformación denominada de alta energía.
2. Cuando la **contracción** del músculo es estimulada (por medio de fenómenos que comprenden Ca^{2+}, troponina, tropomiosina y actina, que se describen más adelante), la actina se hace accesible, y la cabeza S-1 de la miosina la encuentra, se une a ella, y forma el complejo de actina-miosina-ADP-P_i indicado.
3. La formación de este complejo **promueve la liberación de P_i**, lo que inicia el golpe de poder. Esto va seguido por liberación de ADP, y se acompaña de un cambio conformacional grande en la cabeza de miosina en relación con su cola (**figura 51-7**), que tira de la actina alrededor de 10 nm hacia el centro del sarcómero; éste es el **golpe de potencia**. La miosina ahora se encuentra en un estado llamado de baja energía, indicado como actina-miosina.
4. Otra molécula de ATP se une a la cabeza S-1 y forma un complejo de actina-miosina-ATP.
5. La miosina-ATP tiene baja afinidad por la actina y, así, **se libera la actina**. Este último paso es el componente clave de la relajación y depende de la unión del ATP al complejo de actina-miosina.

A continuación comienza **otro ciclo** con la hidrólisis de ATP (paso 1 de la figura 51-6), lo que vuelve a constituir la conformación de alta energía.

De esta manera, la hidrólisis del ATP se usa para impulsar el ciclo; el golpe de potencia real es el cambio conformacional en la cabeza S-1 que ocurre en el momento de liberación de ADP. Las **regiones bisagra** de la miosina (a las cuales se hace referencia como puntos flexibles en cada extremo de S-2 en la leyenda de la figura 51-7) permiten el gran rango de movimiento de S-1 y que S-1 encuentre filamentos de actina.

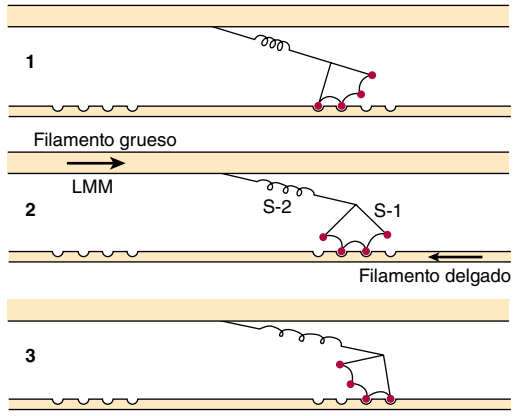


FIGURA 51-7 Representación de los puentes transversales activos entre filamentos delgados y gruesos. Este diagrama fue adaptado por AF Huxley a partir de HE Huxley: The mechanism of muscular contraction. Science 1969;164:1356. Este último propuso que la fuerza involucrada en la contracción muscular se origina en una tendencia a que la cabeza de miosina (S-1) rote respecto al filamento delgado y se transmita hacia el filamento grueso por la porción S-2 de la molécula de miosina que actúa como un enlace inextensible. Puntos flexibles en cada extremo de S-2 permiten que S-1 rote, y que haya variaciones de la separación entre los filamentos. La presente figura se basa en la propuesta de HE Huxley, pero también incorpora elementos elásticos (las vueltas en la porción S-2) y elementos de acortamiento por pasos (descritos aquí como cuatro sitios de interacción entre la porción S-1 y el filamento delgado). (Véase Huxley AF, Simmons RM: Proposed mechanism of force generation in striated muscle. Nature [Lond] 1971;233:533.) Las fuerzas de unión de los sitios fijos son más altas en la posición 2 que en la 1, y más altas en la posición 3 que en la 2. La cabeza de miosina puede desprenderse de la posición 3 con la utilización de una molécula de ATP; éste es el proceso predominante durante el acortamiento. Se observa que la cabeza de miosina varía en su posición desde alrededor de 90° hasta aproximadamente 45°, como se indica en el texto. (S-1, cabeza de miosina; S-2, porción de la molécula de miosina; LMM, meromiosina ligera) (véase el pie de figura de la figura 49-4). (Reproducido de Huxley AF: Muscular contraction. J Physiol 1974;243:1. Por la amable autorización del autor y de *Journal of Physiology*).

Si las **concentraciones intracelulares de ATP disminuyen** (p. ej., después de la muerte), no hay ATP disponible para unirse a la cabeza S-1 (paso 4, véase antes), la **actina no se disocia** y no ocurre relajación (paso 5). Ésta es la explicación del ***rigor mortis***, la rigidez del cuerpo que ocurre después de la muerte.

Los cálculos han indicado que la **eficiencia** de la contracción es de alrededor de 50%; la del motor de combustión interna es de menos de 20%.

La tropomiosina y el complejo de troponina presentes en filamentos delgados desempeñan funciones clave en el músculo estriado

En el músculo estriado, hay otras dos proteínas que son menores en cuanto a su masa, pero importantes en términos de su función. La **tropomiosina** es una molécula fibrosa que consta de dos cadenas, alfa y beta, que se fijan a la actina F en el surco entre sus filamentos (figura 51-3). La tropomiosina está presente en todas las estructuras musculares y parecidas a músculo. El **complejo de troponina** es singular para el músculo estriado, y consta de tres polipéptidos. La **troponina T** (TpT) se une a la tropomiosina, así como a los otros dos componentes de la troponina. La **troponina**

I (TpI) inhibe la interacción entre actina F y miosina, y se une también a los otros componentes de la troponina. La **troponina C** (TpC) es un polipéptido de unión a calcio, análogo desde los puntos de vista estructural y funcional a la **calmodulina**, una importante proteína de unión a calcio ampliamente distribuida en la naturaleza. Cuatro moléculas de ion de calcio se unen por cada molécula de troponina C o calmodulina, y ambas moléculas tienen una masa molecular de 17 kDa.

El Ca^{2+} es fundamental en la regulación de la contracción muscular

La contracción de músculos de todas las fuentes ocurre mediante el mecanismo general antes descrito. Los músculos de diferentes organismos y de distintas células y tejidos dentro del mismo organismo pueden tener diferentes mecanismos moleculares que se encargan de regular su contracción y relajación. En todos los sistemas, el **Ca^{2+}** es un regulador clave. Hay dos mecanismos generales de **regulación** de la contracción muscular: **basada en actina** y **basada en miosina**. El primero opera en los músculos esquelético y cardíaco, y el segundo en el músculo liso.

La regulación basada en actina ocurre en el músculo estriado

La **regulación basada en actina** del músculo ocurre en los músculos esquelético y cardíaco de vertebrados, ambos estriados. En el mecanismo general antes descrito (figura 51-6), el único factor en potencia limitante en el ciclo de la contracción muscular podría ser el ATP. El sistema del músculo esquelético está **inhibido** en reposo; esta inhibición se suprime para activar la contracción. El inhibidor del músculo estriado es el **sistema de troponina**, que está unido a la tropomiosina y la actina F en el filamento delgado (figura 51-3). En el músculo estriado, no hay control de la contracción a menos que los sistemas de tropomiosina-troponina estén presentes junto con los filamentos de actina y miosina. Como se describió, la **tropomiosina** yace a lo largo del surco de la actina F y los tres componentes de la **troponina** (TpT, TpI y TpC) están unidos al complejo de actina F-tropomiosina. La TpI evita la unión de la cabeza de miosina a su sitio de fijación a actina F al alterar la conformación de esta última por medio de las moléculas de tropomiosina, o al simplemente girar la tropomiosina hacia una posición que bloquea de manera directa los sitios en la actina F a los cuales se fijan las cabezas de miosina. Uno u otro método evita la activación de la ATPasa de la miosina que está mediada por unión de la cabeza de miosina a actina F. Por tanto, el sistema TpI bloquea el ciclo de contracción en el paso 2 de la figura 51-6; esto explica el **estado inhibido** del músculo estriado relajado.

El retículo sarcoplásmico regula las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} en el músculo esquelético

En el sarcoplasma del músculo en reposo, la concentración de Ca^{2+} es de 10^{-8} a 10^{-7} mol/L. El estado de reposo se logra porque el Ca^{2+} se bombea hacia el retículo sarcoplásmico (SR) por medio de la acción de un sistema de transporte activo, llamado el Ca^{2+} ATPasa (**figura 51-8**), lo que inicia la relajación. El SR

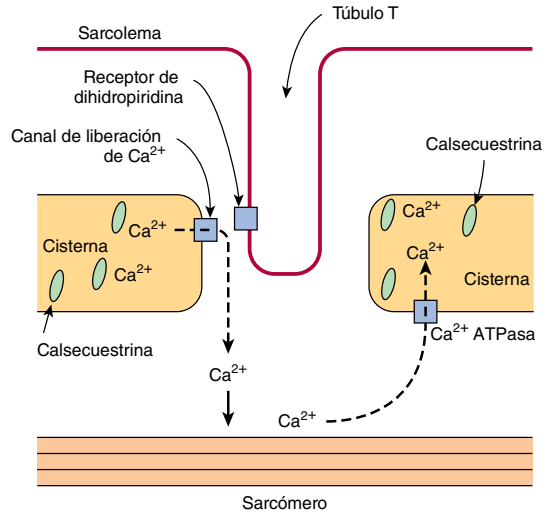


FIGURA 51-8 Diagrama de las relaciones entre sarcolema (membrana plasmática), un túbulo T, y dos cisternas del retículo sarcoplásmico (SR) de músculo esquelético (no a escala). El túbulo T se extiende hacia dentro del sarcolema. Una onda de despolarización, iniciada por un impulso nervioso, se transmite desde el sarcolema por el túbulo T. Después se retransmite hacia el canal de liberación de Ca^{2+} (receptor de rianodina), quizá por interacción con el receptor de dihidropiridina (canal de voltaje de Ca^{2+} lento), que se muestran en estrecha proximidad. La liberación de Ca^{2+} desde el canal de liberación de Ca^{2+} (RYR) hacia el citosol inicia la contracción. Después, la Ca^{2+} ATCasa (bomba de Ca^{2+}) bombea de regreso el Ca^{2+} hacia las cisternas del retículo sarcoplásmico (SR) y se almacena ahí, unido en parte a calsecuestrina.

es una red de sacos membranosos finos. Dentro del SR, el Ca^{2+} está unido a una proteína de unión a Ca^{2+} específica designada **calsecuestrina**. El sarcómero está rodeado por una membrana excitable (el sistema de túbulos T) compuesta de canales transversos (T) estrechamente relacionados con el SR.

Cuando un **impulso nervioso** excita el sarcolema, la señal se transmite hacia un sistema de túbulos T y se abre un **canal de liberación de Ca^{2+}** en el SR cercano, lo que libera Ca^{2+} desde el SR hacia el sarcoplasma. La concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma aumenta rápidamente a 10^{-5} mol/L. El Ca^{2+} ocupa con rapidez los sitios de unión a Ca^{2+} en *TpC* en el filamento delgado. El TpC-$4Ca^{2+}$ interactúa con TpI y TpT para alterar su interacción con la tropomiosina. En consecuencia, la tropomiosina se mueve hacia afuera del camino o altera la conformación de la actina F de modo que la cabeza de miosina-ADP-P_i (figura 51-6) puede interactuar con la actina F para empezar el ciclo de contracción.

El canal de liberación de Ca^{2+} también se conoce como el **receptor de rianodina** (RYR). Hay dos isoformas de este receptor: RYR1 y RYR2; el primero está presente en el músculo esquelético, y el segundo en el músculo cardíaco y en el cerebro. La **rianodina** es un alcaloide vegetal que se une de manera específica a RYR1 y RYR2, y modula sus actividades. El canal de liberación de Ca^{2+} es un homotetrámero constituido de cuatro subunidades de 565 kDa. Tiene secuencias transmembrana en su carboxilo terminal y éstas probablemente forman el canal de Ca^{2+}. El resto de la proteína sobresale hacia el citosol y llena la brecha entre el SR y la membrana tubular transversa. El canal es activado por ligando; el Ca^{2+} y el ATP trabajan de manera sinérgica *in vitro,* aunque no está claro cómo opera *in vivo.* En la **figura 51-9** se muestra una posible secuencia de eventos que llevan a la abertura del canal. El

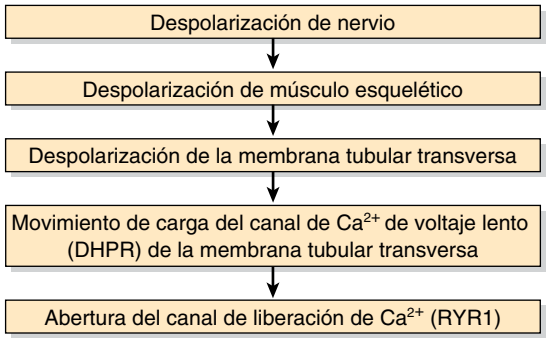


FIGURA 51-9 Posible cadena de eventos que conducen a la abertura del canal de liberación de Ca^{2+}. Como se indica en el texto, se ha mostrado que el canal de voltaje de Ca^{2+} y el canal de liberación de Ca^{2+} interactúan entre sí *in vitro* por medio de regiones específicas en sus cadenas de polipéptidos. (DHPR, receptor de dihidropiridina; RYR1, receptor de rianodina 1).

canal yace muy cerca del **receptor de dihidropiridina** (DHPR; un canal de Ca^{2+} tipo K, lento, activado por voltaje) del sistema de túbulos transversos (figura 51-8). Experimentos *in vitro* en los que se emplea un método con cromatografía en columna de afinidad han indicado que un tramo de 37 aminoácidos en el RYR1 interactúa con un asa específica del DHPR.

La **relajación** ocurre cuando el Ca^{2+} sarcoplásmico cae por debajo de 10^{-7} mol/L debido a su resecuestro hacia el SR por la Ca^{2+} ATPasa. Así, el TpC-4Ca^{2+} pierde su Ca^{2+}. Por tanto, la **troponina**, por medio de interacción con tropomiosina, **inhibe** la interacción adicional entre la cabeza de miosina y la actina F, y en presencia de ATP la cabeza de miosina se desprende de la actina F.

De este modo, el Ca^{2+} controla la contracción y relajación del músculo esquelético mediante un mecanismo alostérico mediado por TpC, TpI, TpT, tropomiosina y actina F.

Un **decremento** de la concentración de **ATP** en el sarcoplasma (p. ej., por uso excesivo durante el ciclo de contracción-relajación o por formación disminuida, como podría ocurrir en la isquemia) tiene dos efectos importantes: 1) la **Ca^{2+} ATPasa** (bomba de Ca^{2+}) en el SR deja de mantener la concentración baja de Ca^{2+} en el sarcoplasma. De esta manera, se promueve la interacción de las cabezas de miosina con actina F. 2) El **desprendimiento de cabezas de miosina**, dependiente de ATP, desde la actina F, no puede ocurrir, y surge rigidez (contractura). El estado de ***rigor mortis***, después de la muerte, es una extensión de estos eventos.

La contracción muscular es un delicado equilibrio dinámico de la fijación y el desprendimiento de cabezas de miosina a actina F, sujeto a regulación fina por medio del sistema nervioso.

En el **cuadro 51-1** se resumen los eventos generales en la contracción y relajación del músculo esquelético.

Las mutaciones en el gen que codifica para el canal de liberación de Ca^{2+} son una causa de hipertermia maligna humana

Algunos pacientes que tienen predisposición genética experimentan una reacción grave, designada **hipertermia maligna (MH)**, cuando quedan expuestos a ciertos anestésicos (p. ej., halotano) y relajantes del músculo esquelético despolarizantes (p. ej., succinilcolina). La reacción consta principalmente de rigidez de los

CUADRO 51-1 Secuencia de eventos en la contracción y relajación del músculo esquelético

Pasos en la contracción
1. Descarga de neurona motora
2. Liberación de transmisor (acetilcolina) en la placa terminal
3. Unión de acetilcolina a receptores de acetilcolina nicotínicos
4. Conductancia del Na^+ y K^+ aumentada en la membrana de la placa terminal
5. Generación del potencial de placa terminal
6. Generación del potencial de acción en fibras musculares
7. Diseminación hacia adentro de despolarización a lo largo de túbulos T
8. Liberación de Ca^{2+} desde cisternas terminales del retículo sarcoplásmico y difusión hacia filamentos gruesos y delgados
9. Unión de Ca^{2+} a troponina C, lo que descubre sitios de unión a miosina, de la actina
10. Formación de enlaces cruzados entre actina y miosina, y deslizamiento de filamentos delgados sobre gruesos, lo que produce acortamiento
Pasos en la relajación
1. Ca^{2+} bombeado de regreso hacia el retículo sarcoplásmico
2. Liberación de Ca^{2+} desde la troponina
3. Cese de la interacción entre la actina y miosina

Fuente: Reproducido, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 24th ed. McGraw-Hill, 2012.

músculos esqueléticos, hipermetabolismo y fiebre alta. Una **concentración citosólica alta de Ca^{2+}** en el músculo esquelético es un factor importante en su causa. A menos que la hipertermia maligna se reconozca y trate de inmediato, los pacientes pueden morir de manera aguda por fibrilación ventricular, o sobrevivir para sucumbir después por otras complicaciones serias. El tratamiento apropiado consta de suspender el anestésico y administrar el fármaco **dantroleno** por vía intravenosa. El dantroleno es un relajante del músculo esquelético que actúa para inhibir la liberación de Ca^{2+} desde el SR hacia el citosol, lo que evita el aumento del Ca^{2+} citosólico que se encuentra en MH.

La MH también ocurre en **cerdos**. Los animales homocigotos para MH susceptibles muestran respuesta al estrés con una reacción mortal (**síndrome de estrés porcino**) similar a la que se observa en los seres humanos. Si la reacción ocurre antes de la matanza, afecta de manera adversa la calidad de la carne, lo que da por resultado un producto inferior. Ambos eventos puedan dar por resultado considerables pérdidas económicas para la industria porcina.

Una concentración alta de Ca^{2+} citosólico en el músculo en sujetos con MH sugirió que la enfermedad podría producirse por anormalidades en la Ca^{2+} ATPasa o del **canal de liberación de Ca^{2+}**. No se detectaron anormalidades en la primera, pero la secuenciación de cDNA para la segunda proteína proporcionó información, particularmente en cerdos. Todos los cDNA de **cerdos** con MH examinados hasta ahora, han mostrado una sustitución de C1843 por T, lo que da por resultado la sustitución de Arg^{615} por Cis en el canal de liberación de Ca^{2+}. La mutación afecta la función del canal por cuanto se abre con mayor facilidad y permanece abierto durante más tiempo; el resultado neto es liberación masiva de Ca^{2+} hacia el citosol, lo que finalmente causa contracción muscular sostenida.

El cuadro es más complejo en **humanos**, puesto que la MH muestra **heterogeneidad genética**. Los miembros de varias familias que sufren hipertermia maligna no han mostrado enlace gené-

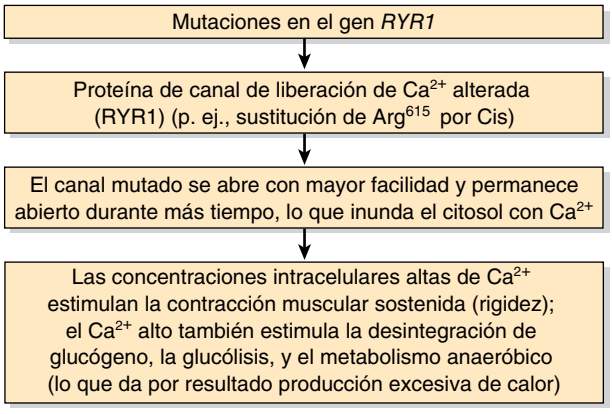


FIGURA 51-10 Esquema simplificado de la causa de la hipertermia maligna (OMIM 145600). Se han detectado muchas mutaciones puntuales diferentes en el gen *RYR1*, algunas de las cuales se relacionan con miopatía congénita de corpúsculos centrales (OMIM 117000). Se estima que al menos 50% de las familias con miembros que tienen hipertermia maligna está enlazado al gen *RYR1*. Asimismo, se han detectado algunos individuos con mutaciones en el gen que codifica para DHPR; posiblemente también se encontrarán mutaciones en otros genes que codifican para proteínas involucradas en ciertos aspectos del metabolismo muscular.

tico con el gen *RYR1*. Se ha encontrado que algunos humanos susceptibles a MH muestran la misma mutación que se encuentra en cerdos, y otros tienen diversas mutaciones puntuales en diferentes *loci* del gen *RYR1*. Se ha hallado que ciertas familias con MH tienen mutaciones que afectan el **DHPR**. Es posible que las mutaciones que afectan otras proteínas musculares, como la **calsecuestrina-1**, una proteína de unión a Ca^{2+} del SR que modula la función de RyR1, también cause MH. En la **figura 51-10** se resume la probable cadena de eventos en la hipertermia maligna. La principal promesa de estos datos es que, una vez que se detecten mutaciones adicionales, será posible la **detección**, usando sondas de DNA idóneas, de individuos en riesgo de presentar MH durante anestesia. Las pruebas de detección actuales (p. ej., la prueba de cafeína-halotano *in vitro*) son relativamente poco fiables. Entonces podrían administrarse a los afectados **anestésicos alternativos**, que no pondrían en peligro su vida. También debe ser posible, si se desea, eliminar la MH de poblaciones de cerdos usando prácticas de cría idóneas.

Otra enfermedad debida a mutaciones en el gen *RYR1* es la **miopatía congénita de corpúsculos centrales**, ésta es una miopatía rara que se presenta durante la lactancia, con hipotonía y debilidad de músculos proximales. La microscopia electrónica revela falta de mitocondrias en el centro de muchas fibras musculares tipo I (véase más adelante). Los datos morfológicos parecen depender de daño de las mitocondrias inducido por concentraciones intracelulares altas de Ca^{2+} consecutivas a funcionamiento anormal de *RYR1*.

LAS MUTACIONES EN EL GEN QUE CODIFICA PARA DISTROFINA CAUSAN DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

Varias **proteínas adicionales** desempeñan diversas funciones en la estructura y función del músculo. Incluyen titina (la proteína de mayor tamaño conocida), nebulina, α-actinina, desmina, distrofina y calcineurina. En el **cuadro 51-2** se resumen algunas propiedades de estas proteínas.

CUADRO 51-2 Algunas otras proteínas importantes del músculo

Proteína	Ubicación	Comentario o función
Titina	Abarca desde la línea Z hasta la línea M	La proteína de mayor tamaño en el organismo. Participa en la relajación del músculo
Nebulina	Desde la línea Z a lo largo de filamentos de actina	Quizá regule el montaje y la longitud de filamentos de actina
α-Actinina	Fija la actina a líneas Z	Estabiliza filamentos de actina
Desmina	Yace a lo largo de filamentos de actina	Se fija a la membrana plasmática (plasmalema)
Distrofina	Fija al plasmalema	Deficiente en la distrofia muscular de Duchenne. Las mutaciones de este gen también pueden causar miocardiopatía dilatada
Calcineurina	Citosol	Una proteína fosfatasa regulada por calmodulina. Puede tener importancia en la hipertrofia cardíaca y en la regulación de cantidades de músculos de contracción lenta y rápida
Proteína C de unión a miosina	Dispuesta de manera transversal en las bandas A del sarcómero	Se une a la miosina y titina. Participa en el mantenimiento de la integridad estructural del sarcómero

La **distrofina** despierta especial interés. Como se comenta en el caso número 9 del capítulo 57, se ha mostrado que las mutaciones en el gen que codifica para esta proteína son la causa de la **distrofia muscular de Duchenne**, y de la más leve **distrofia muscular de Becker**. También quedan implicadas en algunos casos de **miocardiopatía dilatada** (véase más adelante). La distrofina forma parte de un complejo grande de proteínas que se fijan al plasmalema o que interactúan con el mismo (**figura 51-11**). La distrofina enlaza el citoesqueleto de la actina a la ECM y parece ser necesaria para el montaje de la unión sináptica. Se cree que el deterioro de estos procesos por formación de distrofina defectuosa es crucial en la causa de la distrofia muscular de Duchenne. Las mutaciones en los genes que codifican para algunos de los componentes del **complejo de sarcoglucano** (figura 51-11) son la causa de **distrofia muscular de la cintura escapulohumeral o pélvica**, y de algunas **otras formas congénitas** de distrofia muscular.

Se ha encontrado que las mutaciones en genes que codifican para **varias glucosiltransferasas** involucradas en la síntesis de las cadenas de azúcar del **α-distroglucano** son la causa de ciertos tipos de **distrofia muscular congénita** (capítulo 46).

EL MÚSCULO CARDÍACO SE PARECE AL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN MUCHOS ASPECTOS

El cuadro general de la contracción muscular en el corazón semeja el de la contracción del músculo esquelético. El músculo cardíaco,

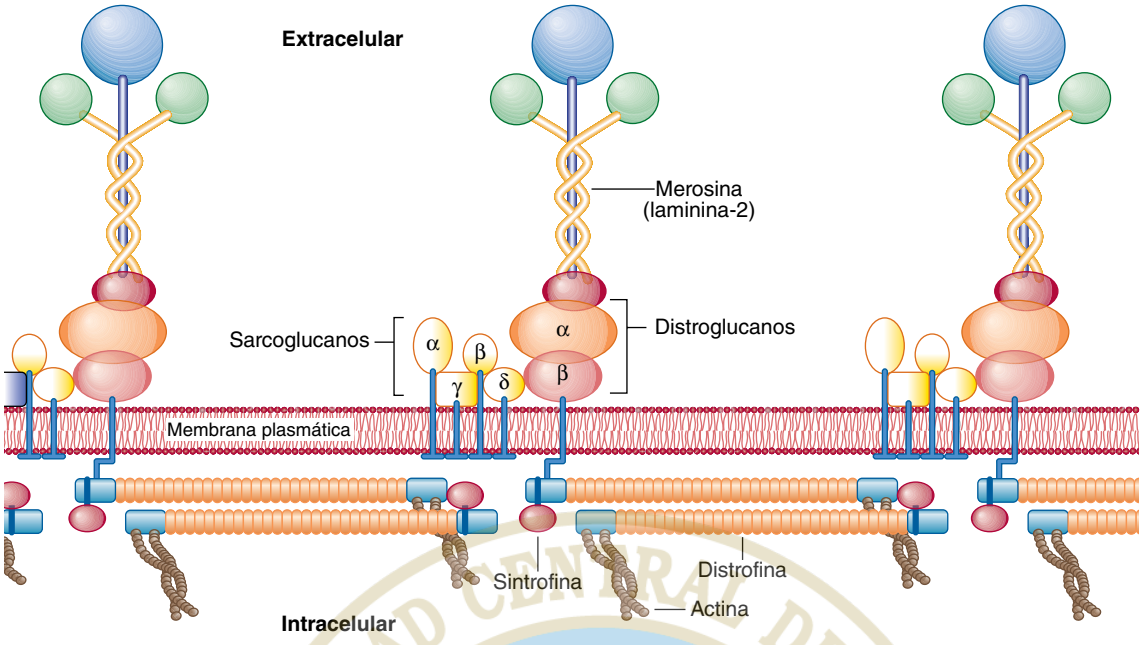


FIGURA 51-11 Organización de la distrofina y otras proteínas en relación con la membrana plasmática de células musculares. La distrofina forma parte de un complejo oligomérico grande asociado con varios otros complejos proteínicos. El complejo de distroglucano consta de un α-distroglucano, que se asocia con la proteína de la lámina basal merosina (también llamada a laminina-2, véase capítulo 50) y α-distroglucano, que une α-distroglucano y distrofina. La sintrofina se une al carboxilo terminal de la distrofina. El complejo sarcoglucano consta de cuatro proteínas transmembrana: α-, β-y γ- sarcoglucano. No están claras la función del complejo de sarcoglucano ni la naturaleza de las interacciones dentro del complejo y entre este último y los otros complejos. El complejo de sarcoglucano sólo se forma en el músculo estriado, y sus subunidades se asocian de preferencia entre sí, lo que sugiere que el complejo quizá funcione como una unidad única. Las mutaciones en el gen que codifica para distrofina causan distrofia muscular de Duchenne y de Becker. Se ha mostrado que las mutaciones en los genes que codifican para los diversos sarcoglucanos son la causa de distrofias de las cinturas escapular o pélvica (p. ej., OMIM 604286), y las mutaciones en genes que codifican para otras proteínas musculares causan otros tipos de distrofia muscular. Las mutaciones en genes que codifican para ciertas glucosiltransferasas involucradas en las síntesis de las cadenas de glucano del α-distroglucano son la causa de ciertas distrofias musculares congénitas. (Reproducido, con autorización, de Duggan DJ *et al*.: Mutations in the sarcoglycan genes in patients with myopathy. N Engl J Med 1997; 336:618. Copyright © 1997 Massachusetts Medical Society. Todos los derechos reservados).

al igual que el esquelético, es **estriado**, y usa el sistema de actina-miosina-tropomiosina-troponina antes descrito. Al contrario del músculo esquelético, el músculo cardíaco muestra **ritmicidad intrínseca** y miocitos individuales se comunican entre sí debido a su naturaleza sincitial. El **sistema tubular T** está más desarrollado en el músculo cardíaco, mientras que el **SR** es menos extenso y por consiguiente el aporte intracelular de Ca^{2+} para la contracción es menor. Así, la contracción del músculo cardíaco depende del **Ca^{2+} extracelular**; si el músculo cardíaco aislado queda privado de Ca^{2+}, deja de latir en el transcurso de alrededor de 1 minuto, mientras que el músculo esquelético puede seguir contrayéndose durante un período más prolongado sin una fuente extracelular de Ca^{2+}. El **AMP cíclico** desempeña una función más notoria en el músculo cardíaco que en el esquelético. Modula las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} por medio de la activación de proteína cinasas; estas enzimas fosforilan diversas proteínas de transporte en el sarcolema y el SR, también se dirigen al complejo regulador de troponina-tropomiosina, lo que afecta su capacidad de respuesta a las concentraciones intracelulares de Ca^{2+}. Hay una correlación gruesa entre la fosforilación de TpI y la contracción aumentada del músculo cardíaco inducida por catecolaminas. Esto puede explicar los **efectos inotrópicos** (contractilidad aumentada) de los compuestos β-adrenérgicos sobre el corazón. En el **cuadro 51-3** se resumen algunas diferencias entre los músculos esquelético, cardíaco y liso.

El Ca^{2+} entra a los miocitos mediante canales de Ca^{2+}, y los abandona por medio del intercambiador de Na^{+}-Ca^{2+} y la Ca^{2+} ATPasa

Como se mencionó, el **Ca^{2+} extracelular** desempeña una función importante en la contracción del músculo cardíaco, no así en la del esquelético. Esto significa que el Ca^{2+} entra a los miocitos y sale de los mismos de una manera regulada. Se considerarán brevemente tres proteínas transmembrana que participan en este proceso.

Canales de Ca^{2+}

El Ca^{2+} entra en los miocitos por medio de estos canales, que permiten la entrada sólo de iones de Ca^{2+}. La principal puerta de entrada es el tipo L (corriente de larga duración, conductancia grande) o canal de **Ca^{2+} lento**, que es activado por voltaje, se abre durante despolarización inducida por propagación del potencial de acción cardíaco y se cierra cuando el potencial de acción declina. Estos canales son equivalentes a los receptores de dihidropiridina del músculo esquelético (figura 51-8). Los canales de Ca^{2+} lentos están **regulados** por proteína cinasas dependientes de cAMP (estimuladoras) y cGMP-proteína cinasas (inhibidoras), y quedan bloqueados por los llamados bloqueadores de los canales de calcio (p. ej., verapamilo). Los canales de Ca^{2+} **rápidos** (o T, transitorios) también están presentes en el plasmalema,

CUADRO 51-3 Algunas diferencias entre músculo esquelético, cardíaco y liso

Músculo esquelético	Músculo cardíaco	Músculo liso
1. Estriado	1. Estriado	1. No estriado
2. No tiene sincitio	2. Sincitial	2. Sincitial
3. Túbulos T pequeños	3. Túbulos T grandes	3. Por lo general túbulos T rudimentarios
4. Retículo sarcoplásmico bien desarrollado y la bomba de Ca^{2+} actúa con rapidez	4. El retículo sarcoplásmico está presente y la bomba de Ca^{2+} actúa con relativa rapidez	4. Retículo sarcoplásmico a menudo rudimentario y la bomba de Ca^{2+} actúa con lentitud
5. El plasmalema carece de muchos receptores de hormona	5. El plasmalema contiene diversos receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos)	5. El plasmalema contiene diversos receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos)
6. El impulso nervioso inicia la contracción	6. Tiene ritmicidad intrínseca	6. Contracción iniciada por impulsos nerviosos, hormonas, etc.
7. El Ca^{2+} en el líquido extracelular no es importante para la contracción	7. El Ca^{2+} en el líquido extracelular es importante para la contracción	7. El Ca^{2+} en el líquido extracelular es importante para la contracción
8. Sistema de troponina presente	8. Sistema de troponina presente	8. Carece de sistema de troponina; usa la cabeza de miosina reguladora
9. No participa la caldesmona	9. La caldesmona no participa	9. La caldesmona es una importante proteína reguladora
10. Paso de los puentes transversales por ciclos muy rápidos	10. Paso de los puentes transversales por ciclos relativamente rápidos	10. El paso de los puentes transversales por ciclos lentos permite contracción lenta y prolongada, y menos utilización de ATP

aunque en números mucho menores; probablemente contribuyen a la fase temprana del incremento del Ca^{2+} mioplásmico.

El aumento resultante del Ca^{2+} en el mioplasma actúa sobre el canal de liberación de Ca^{2+} del SR para abrirlo; esto se llama **liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+}** (CICR). Se estima que alrededor de 10% del Ca^{2+} involucrado en la contracción entra en el citosol desde el líquido extracelular y 90% desde el SR. Empero, el primer 10% es importante, puesto que el índice de aumento de Ca^{2+} en el mioplasma es importante, y la entrada por medio de los canales de Ca^{2+} contribuye de manera apreciable a esto.

Intercambiador de Ca^{2+}-Na^+

Se trata de la principal ruta de **salida** de Ca^{2+} desde los miocitos. En miocitos en reposo, ayuda a mantener una concentración baja de Ca^{2+} intracelular libre al intercambiar un Ca^{2+} por tres Na^+. La energía para el movimiento torrente arriba de Ca^{2+} hacia afuera de la célula proviene del movimiento torrente abajo de Na^+ hacia la célula desde el plasma. Este intercambio contribuye a la relajación, pero puede correr en la dirección inversa durante la excitación. Debido al intercambiador de Ca^{2+}- Na^+, cualquier cosa que cause aumento del Na^+ intracelular (Na^+_i) ocasionará de manera secundaria aumento del Ca^{2+}_i, lo que origina contracción más enérgica; esto se denomina **efecto inotrópico positivo**. Un ejemplo es cuando el fármaco **digital** se usa para tratar insuficiencia cardíaca. La digital inhibe la Na^+- K^+ ATPasa sarcolémica, lo que disminuye la salida de Na^+ y, así, aumenta el Na^+_i lo que, a su vez, causa incremento del Ca^{2+}, por medio del intercambiador de Ca^{2+}-Na^+. El Ca^{2+}_i aumentado suscita incremento de las fuerzas de la contracción cardíaca (**figura 51-12**), que resulta beneficioso en personas con insuficiencia cardíaca.

Ca^{2+} ATPasa

Esta bomba de Ca^{2+}, situada en el sarcolema, también contribuye a la salida de **Ca^{2+}**, pero se cree que tiene un papel relativamente menor en comparación con el intercambiador de Ca^{2+}-Na^+.

Cabe hacer notar que hay diversos **canales de ion** (capítulo 40) en casi todas las células, para Na^+, K^+, Ca^{2+}, etc. Muchos de ellos se han clonado durante los últimos años y se ha determinado su disposición en sus membranas respectivas (número de veces

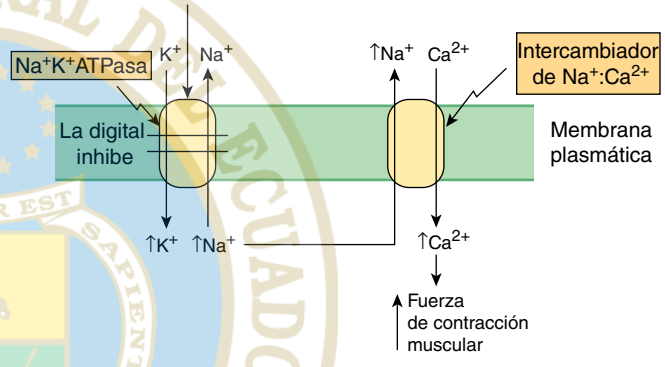


FIGURA 51-12 Esquema de la manera en que el fármaco digital (usado en el tratamiento de ciertos casos de insuficiencia cardíaca) aumenta la contracción cardíaca. La digital inhibe la Na^+K^+Atpasa (capítulo 40). Esto da por resultado bombeo de menos Na^+ hacia afuera del miocito cardíaco, y lleva a un incremento de la concentración intracelular de Na^+. A su vez, esto estimula al intercambiador de Na^+-Ca^{2+}, de modo que más Na^+ se intercambia hacia afuera y más Ca^{2+} entra al miocito. La concentración intracelular aumentada resultante de Ca^{2+} incrementa la fuerza de la contracción muscular.

que cada uno cruza su membrana, ubicación del sitio de transporte de ion real en la proteína, etc.); pueden clasificarse como se indica en el **cuadro 51-4**. El músculo cardíaco tiene alto contenido de canales de ion y estos últimos también tienen importancia en el músculo esquelético. Se ha mostrado que las mutaciones de los genes que codifican para canales de ion causan varias enfermedades relativamente raras que afectan el músculo. Éstas y otras enfermedades debidas a mutaciones de canales de ion se han llamado **canalopatías**; algunas se listan en el **cuadro 51-5**.

Las miocardiopatías hereditarias se deben a trastornos del metabolismo de energía cardíaco o a proteínas miocárdicas anormales

Una **miocardiopatía hereditaria** es cualquier anormalidad estructural o funcional del miocardio ventricular debida a una causa hereditaria. Hay tipos de miocardiopatía no hereditarios, pero no se describirán aquí. Las causas de las miocardiopatías here-

CUADRO 51-4 Principales tipos de canales de ion encontrados en las células

Tipo	Comentario
Activado por ligando externo	Se abre en respuesta a una molécula extracelular específica, por ejemplo, acetilcolina
Activado por ligando interno	Se abre o cierra en respuesta a una molécula intracelular específica, por ejemplo, un nucleótido cíclico
Activado por voltaje	Se abre en respuesta a un cambio del potencial de membrana, por ejemplo, canales de Na^+, K^+ y Ca^{2+} en el corazón
Activado mecánicamente	Se abre en respuesta al cambio de la presión mecánica

CUADRO 51-5 Algunos trastornos (canalopatías) debidos a mutaciones en genes que codifican para polipéptidos constituyentes de canales de ion

Trastorno[a]	Canal de ion y principales órganos afectados
Miopatía congénita de corpúsculos centrales (OMIM 117000)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1) Músculo esquelético
Parálisis periódica hiperpotasémica (OMIM 170500)	Canal de sodio, Músculo esquelético
Parálisis periódica hipopotasémica (OMIM 170400)	Canal de Ca^{2+} de voltaje lento (DHPR), Músculo esquelético
Hipertermia maligna (OMIM 145600)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1), Músculo esquelético
Miotonía congénita (OMIM 160800)	Canal de cloruro, Músculo esquelético

[a] Otras canalopatías incluyen el síndrome de QT largo (OMIM 192500); seudoaldosteronismo (síndrome de Liddle, OMIM 177200); hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la lactancia (OMIM 601820); nefrolitiasis tipo II recesiva ligada a X hereditaria, de la lactancia (síndrome de Dent, OMIM 300009), y miotonía generalizada, recesiva (enfermedad de Becker, OMIM 255700). El término "miotonía" significa cualquier enfermedad en la cual los músculos no se relajan tras la contracción.

Fuente: Datos en parte de Ackerman NJ, Clapham DE: Ion channels—basic science and clinical disease. N Engl J Med 1997; 336:1575.

CUADRO 51-6 Causas bioquímicas de miocardiopatías hereditarias[a]

Causa	Proteínas o proceso afectados
Errores congénitos de la oxidación de ácidos grasos	Entrada de carnitina hacia las células y mitocondrias
	Ciertas enzimas de la oxidación de ácidos grasos
Trastornos de la fosforilación oxidativa mitocondrial	Proteínas codificadas por genes mitocondriales
	Proteínas codificadas por genes nucleares
Anormalidades de proteínas contráctiles y estructurales miocárdicas	Cadenas pesadas de β-miosina, troponina, tropomiosina, distrofina

[a] Las mutaciones (p. ej., mutaciones puntuales, o en algunos casos deleciones) en los genes (nucleares o mitocondriales) que codifican para diversas proteínas, enzimas, o moléculas de tRNA, son las causas fundamentales de las miocardiopatías hereditarias. Algunas enfermedades son leves, mientras que otras son graves y pueden formar parte de un síndrome que afecta a otros tejidos.

Fuente: Basado en Kelly DP, Strauss AW: Inherited cardiomyopathies. N Engl J Med 1994; 330:913.

ditarias caen dentro de dos clases amplias (**cuadro 51-6**): 1) trastornos del **metabolismo de energía cardíaco**, que reflejan principalmente mutaciones en genes que codifican para enzimas o proteínas involucradas en la oxidación de ácidos grasos (una importante fuente de energía para el miocardio) y la fosforilación oxidativa, y 2) mutaciones en genes que codifican para proteínas que participan en la **contracción miocárdica** o que la **afectan**, como la miosina, tropomiosina, las troponinas y la proteína C de unión a miosina cardíaca. Las mutaciones en los genes que codifican para estas últimas proteínas causan miocardiopatía hipertrófica familiar, que se comentará a continuación.

Las mutaciones en el gen que codifica para la cadena pesada de la β-miosina cardíaca son una causa de miocardiopatía hipertrófica familiar

La miocardiopatía hipertrófica familiar es una de las enfermedades cardíacas hereditarias más frecuentes. Los pacientes muestran hipertrofia (a menudo masiva) de uno o ambos ventrículos, que empieza en etapas tempranas de la vida y no se relaciona con alguna causa extrínseca, como hipertensión. La mayor parte de los casos se transmite de una manera autosómica dominante; el resto es esporádico. Hasta hace poco, su causa era oscura. Con todo, esta situación cambió cuando los estudios de una familia afectada mostraron que la enfermedad dependía de una **mutación sin sentido** (esto es, sustitución de un aminoácido por otro) en el gen que codifica para **cadena pesada de β-miosina**. Estudios subsiguientes han mostrado varias mutaciones sin sentido en este gen, todas las cuales codifican para residuos muy conservados. Algunos individuos han mostrado otras mutaciones, como la formación de un gen híbrido que codifica para cadena pesada de α/β-miosina. Los pacientes con miocardiopatía hipertrófica familiar pueden mostrar gran variación del cuadro clínico; esto refleja en parte la **heterogeneidad genética**; esto es, la mutación en varios **otros genes** (p. ej., los que codifican para actina cardíaca, tropomiosina, troponinas cardíacas I y T, cadenas ligeras de miosina esenciales y reguladoras, proteína C de unión a miosina cardíaca, titina, y tRNA-glicina y tRNA-isoleucina mitocondriales) también puede causar miocardiopatía hipertrófica familiar. Además, las mutaciones en diferentes sitios en el gen que codifica para cadena pesada de β-miosina pueden afectar en mayor o menor grado la función de la proteína. Las mutaciones sin sentido están agrupadas en las regiones de la cabeza y de cabeza-varilla de la cadena pesada de miosina. Una hipótesis es que los polipéptidos mutantes ("polipéptidos veneno") causan formación de miofibrillas anormales, lo que finalmente da por resultado hipertrofia compensadora. Algunas mutaciones alteran la **carga** de una cadena de aminoácido (p. ej., sustitución de glutamina por arginina), lo que quizá afecta la **conformación** de la proteína de manera significativamente más notoria que otras sustituciones. En pacientes que tienen estas mutaciones la esperanza de vida es notoriamente más breve que en aquellos en quienes la mutación no produjo alteración de la carga. De este modo, quizá resulte que la definición de las mutaciones precisas involucradas en la génesis de FHC tenga utilidad pronóstica importante; puede lograrse mediante el uso apropiado de la reacción en cadena de polimerasa en DNA genómico obtenido a partir de una muestra de linfocitos sanguíneos. La

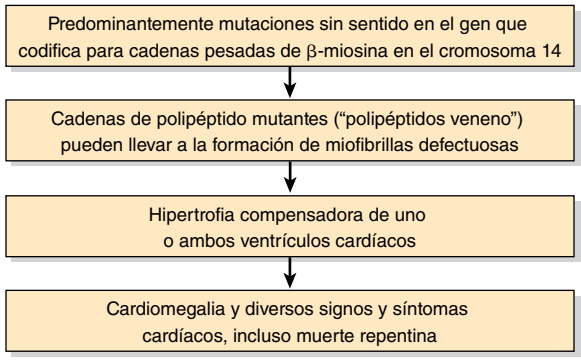


FIGURA 51-13 Esquema simplificado de la causa de la miocardiopatía hipertrófica familiar (OMIM 192600) debido a mutaciones del gen que codifica para la cadena pesada de β-miosina. Esta enfermedad también puede depender de mutaciones en genes que codifican para otras proteínas (véase el texto).

figura 51-13 es un esquema simplificado de los eventos que causan miocardiopatía hipertrófica familiar.

Otro tipo de miocardiopatía se denomina **miocardiopatía dilatada**. Las mutaciones en los genes que codifican para distrofina, proteína LIM muscular (así llamada porque se encontró que contiene un dominio con alto contenido de cisteína originalmente detectado en tres proteínas: Lin-II, Isl-1 y Mec-3), la proteína de unión a elemento de respuesta cíclica (CREB), desmina y lamina, han quedado implicadas en la causa de esta enfermedad. Las primeras dos proteínas ayudan a organizar el aparato contráctil de las células de músculo cardíaco y la CREB participa en la regulación de varios genes de estas células. La investigación actual no sólo está elucidando las causas moleculares de las miocardiopatías, sino que también está revelando mutaciones que causan **trastornos del desarrollo cardíaco** (p. ej., defecto de tabique) y **arritmias** (p. ej., debidas a mutación que afecta canales de ion).

El Ca^{2+} también regula la contracción del músculo liso

Si bien todos los músculos contienen actina, miosina y tropomiosina, sólo los músculos **estriados** de vertebrados contienen el **sistema de troponina**. De esta manera, los mecanismos que regulan la contracción deben diferir en diversos sistemas contráctiles.

El **músculo liso** tiene estructura molecular similar a la del estriado, pero los sarcómeros no están alineados de modo que generen el aspecto estriado. El músculo liso contiene moléculas de α-actinina y tropomiosina, al igual que el esquelético. El músculo liso **carece del sistema de troponina** y las cadenas ligeras de las moléculas de miosina del músculo liso difieren de las de la miosina del estriado. La regulación de la contracción del músculo liso está **basada en miosina**, a diferencia de la del músculo estriado, que está basada en actina. Aun así, al igual que el músculo estriado, la contracción del músculo liso está **regulada por Ca^{2+}**.

La fosforilación de cadenas ligeras de miosina inicia la contracción del músculo liso

Cuando la miosina del músculo liso se une a actina F en ausencia de otras proteínas musculares como la tropomiosina, **no hay actividad de ATPasa detectable**. Esta ausencia de actividad es bastante poco semejante a la situación descrita para la miosina y la actina F del músculo estriado, que tiene abundante actividad de ATPasa. La miosina del músculo liso contiene **cadenas ligeras** que evitan la unión de la cabeza de miosina a actina F; se **deben fosforilar** antes de que permitan que la actina F active a la ATPasa de miosina. La actividad de ATPasa entonces alcanzada hidroliza el ATP unas 10 veces más lentamente que la actividad correspondiente en el músculo esquelético. El fosfato en las cadenas ligeras de miosina puede formar un quelado con el Ca^{2+} unido al complejo de tropomiosina-TpC-actina, lo que lleva a un índice aumentado de formación de puentes transversales entre las cabezas de miosina y la actina. La fosforilación de cadenas ligeras **inicia** el ciclo de contracción del músculo liso con fijación-desprendimiento.

La cinasa de cadena ligera de miosina se activa por calmodulina-$4Ca^{2+}$ y después fosforila las cadenas ligeras

El sarcoplasma del músculo liso contiene una **cinasa de cadena ligera de miosina** que es dependiente del calcio. La activación de la cinasa de cadena ligera de miosina por el Ca^{2+} requiere unión de **calmodulina-$4Ca^{2+}$** a su subunidad cinasa (**figura 51-14**). La cinasa de cadena ligera activada por calmodulina-$4Ca^{2+}$ fosforila las cadenas ligeras, que después dejan de inhibir la interacción entre miosina y actina F. Entonces empieza el ciclo de contracción.

En el músculo liso hay otra vía no dependiente de Ca^{2+} para iniciar la contracción, la cual comprende **Rho cinasa**, que es activada por diversos estímulos (que no se muestran en la figura 51-14). Esta enzima fosforila a la fosfatasa de cadena ligera de miosina, lo que la inhibe y, así, aumenta la fosforilación de la cadena ligera. La Rho cinasa también fosforila de modo directo

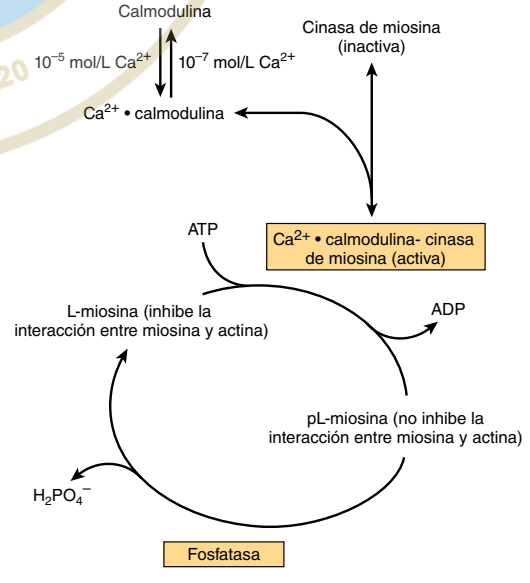


FIGURA 51-14 Regulación de la contracción del músculo liso por Ca^{2+}. La pL-miosina es la cadena ligera fosforilada de la miosina; la L-miosina es la cadena ligera desfosforilada. (Adaptado, con autorización, de Adelstein RS, Eisenberg R: Regulation and kinetics of actin-myosin ATP interaction. Annu Rev Biochem 1980;49:921. Copyright © 1980 por Annual Reviews, www.annualreviews.org).

la cadena ligera de miosina. Estas dos acciones aumentan la contracción del músculo liso.

El músculo liso se relaja cuando la concentración de Ca^{2+} cae por debajo de 10^{-7} molar

El músculo liso se relaja cuando el Ca^{2+} sarcoplásmico cae por debajo de 10^{-7} mol/L. El **Ca^{2+}** se disocia de la calmodulina que, a su vez, se disocia de la cinasa de cadena ligera de miosina, lo que inactiva la cinasa. No se fijan nuevos fosfatos a la cadena ligera p, y la **proteína fosfatasa de cadena ligera**, que es continuamente activa, e independiente del calcio, elimina de las cadenas ligeras los fosfatos existentes. La cadena ligera p de miosina desfosforilada a continuación inhibe la unión de cabezas de miosina a actina F y la actividad de ATPasa. La cabeza de miosina se desprende de la actina F en presencia de ATP, pero no puede volver a fijarse debido a la presencia de cadena ligera p desfosforilada; por consiguiente, ocurre **relajación**.

En el **cuadro 51-7** se resume y compara la regulación de interacciones entre actina y miosina (activación de la ATPasa de miosina) en músculos estriado y liso.

El **cAMP** no afecta o activa de manera directa la cinasa de cadena ligera de miosina. De cualquier modo, la proteína cinasa activada por cAMP puede fosforilar a la cinasa de cadena ligera de miosina (no las cadenas ligeras en sí). La cinasa de cadena ligera de miosina fosforilada muestra una afinidad significativamente menor por calmodulina-Ca^{2+} y, así, es menos sensible a activación. En consecuencia, un **aumento del cAMP disminuye la respuesta de contracción** del músculo liso a un aumento dado del Ca^{2+} sarcoplásmico. Este mecanismo molecular puede explicar el efecto relajante de la estimulación β-adrenérgica sobre el músculo liso.

Otra proteína que parece desempeñar una función dependiente de Ca^{2+} en la regulación de la contracción del músculo liso es la **caldesmona** (87 kDa). Esta proteína es omnipresente en el músculo liso y se encuentra también en tejido que no es músculo. A concentraciones bajas de Ca^{2+}, se une a la tropomiosina y actina. Esto **evita la interacción de la actina con la miosina** y mantiene el músculo en un estado relajado. A concentraciones más altas de Ca^{2+}, la Ca^{2+}-calmodulina se une a la caldesmona, **lo que la libera de la actina**; esta última a continuación queda libre para unirse a la miosina y puede ocurrir contracción. La caldesmona también está sujeta a fosforilación-desfosforilación; cuando está fosforilada, no puede unirse a la actina, lo que de nuevo libera a esta última para interactuar con la miosina. La caldesmona quizá también participe en la organización de la estructura del aparato contráctil en el músculo liso. Muchos de sus efectos se han demostrado *in vitro*, y aún se está investigando su importancia fisiológica.

El ingreso a ciclos lentos de los puentes transversales permite la contracción prolongada del músculo liso (p. ej., en vísceras y vasos sanguíneos) con menos utilización de ATP en comparación con el músculo estriado (cuadro 51-3). La capacidad del músculo liso para mantener fuerza a velocidades de contracción reducidas se denomina el **estado de pestillo**; ésta es una característica importante del músculo liso y su base molecular precisa se encuentra en estudio.

CUADRO 51-7 Interacciones entre actina y miosina en los músculos estriado y liso

	Músculo estriado	Músculo liso (y células no musculares)
Proteínas de filamentos musculares	Actina Miosina[1] Tropomiosina Troponina (Tpl, TpT, TpC)	Actina Miosina[a] Tropomiosina
Interacción espontánea de actina F y miosina solas (activación espontánea de la ATPasa de miosina por la actina F)	Sí	No
Inhibidor de la interacción entre actina F y miosina (activación de ATPasa dependiente de inhibidor de actina F)	Sistema de troponina (Tpl)	Cadena ligera de miosina no fosforilada
Contracción activada por	Ca^{2+}	Ca^{2+}
Efecto directo del Ca^{2+}	$4Ca^{2+}$ se une a TpC	$4Ca^{2+}$ se une a calmodulina
Efecto de Ca^{2+} unido a proteína	TpC $4Ca^{2+}$ antagoniza la inhibición de la interacción entre actina F y miosina por Tpl (permite la activación de ATPasa por la actina F)	La calmodulina $4Ca^{2+}$ activa a la cadena ligera de miosina cinasa que fosforila la cadena ligera p de miosina. La cadena ligera p fosforilada ya no inhibe la interacción entre actina F y miosina (permite la activación de ATPasa por la actina F)

[a] Las cadenas ligeras de miosina son diferentes en los músculos liso y estriado.

El óxido nítrico (NO) relaja el músculo liso de los vasos sanguíneos, y tiene muchas otras funciones biológicas importantes

La acetilcolina es un vasodilatador que actúa al causar relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos; sin embargo, no actúa de manera directa sobre el músculo liso. Una observación clave fue que si las **células endoteliales** se separaban de las células de músculo liso subyacentes, la acetilcolina ya no ejercía su efecto vasodilatador. Este dato indicó que los vasodilatadores como la acetilcolina inicialmente interactúan con las células endoteliales de los vasos sanguíneos de pequeño calibre por medio de receptores. Los receptores están acoplados al ciclo de la fosfoinositida, lo que lleva a la liberación intracelular de Ca^{2+} por medio de la acción del trifosfato de inositol. A su vez, el aumento del Ca^{2+} lleva a la liberación de **factor relajante derivado del endotelio (EDRF)**, que se difunde hacia el músculo liso adyacente. Ahí, reacciona con la porción hem de una guanilil ciclasa soluble, lo que da por resultado la activación de esta última, con aumento consiguiente de las concentraciones intracelulares de **cGMP** (**figura 51-15**). Esto, a su vez, estimula las actividades de ciertas proteína cinasas dependientes de cGMP, que probablemente fosforila proteínas musculares específicas, lo que causa relajación;

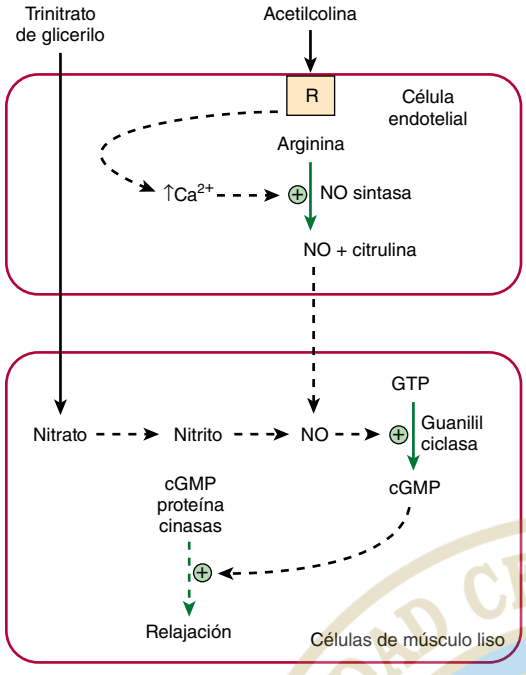


FIGURA 51-15 Diagrama que muestra la formación de óxido nítrico (NO) a partir de arginina en una reacción catalizada por la NO sintasa en una célula endotelial. La interacción de un agonista (p. ej., acetilcolina) con un receptor (R) probablemente lleva a liberación intracelular de Ca^{2+} por medio de trifosfato de inositol generado mediante la vía de la fosfoinositida, lo que da por resultado activación de la NO sintasa. El NO después se difunde hacia músculo liso adyacente, donde lleva a la activación de la guanilil ciclasa, formación de cGMP, estimulación de cGMP proteína cinasas, y relajación subsiguiente. Se muestra el vasodilatador nitroglicerina entrando en la célula de músculo liso, donde su metabolismo también lleva a la formación de NO.

no obstante, los detalles aún se están esclareciendo. El importante vasodilatador de arteria coronaria, **nitroglicerina**, ampliamente usado para aliviar angina de pecho, actúa para aumentar la liberación intracelular de EDRF y, así, de cGMP.

De manera bastante inesperada, se encontró que el EDRF es el **gas óxido nítrico (NO).** El NO se forma mediante la acción de la enzima NO sintasa, que es citosólica. Las formas endotelial y neuronal de la NO sintasa se activan por medio de Ca^{2+} (**cuadro 51-8**). El sustrato es **arginina** y los productos son citrulina y NO.

La **NO sintasa** cataliza una oxidación de cinco electrones de un nitrógeno amidina de la arginina. La L-hidroxiarginina es un intermediario que permanece estrechamente unido a la enzima. La NO sintasa es una enzima muy compleja; emplea cinco cofactores redox: NADPH, FAD, FMN, hem y tetrahidrobiopterina. El NO también puede formarse a partir de **nitrito**, derivado de vasodilatadores como trinitrato de glicerilo durante su metabolismo. El NO tiene una vida muy breve (de aproximadamente 3 a 4 segundos) en los tejidos porque reacciona con oxígeno y superóxido. El producto de la reacción con superóxido es el **peroxinitrito** ($ONOO^-$), que cuando se descompone da el radical OH · altamente reactivo. El NO se une estrechamente a la hemoglobina y otras proteínas hem. Se dispone de **inhibidores químicos de la NO sintasa** que pueden disminuir notoriamente la formación de NO. La administración de esos inhibidores a animales y humanos lleva a vasoconstricción y un notorio aumento de la presión arterial, lo que indica que el NO tiene gran importancia en el mantenimiento de la presión arterial *in vivo*. Otro efecto cardiovascular importante es que al aumentar la síntesis de cGMP, actúa como un **inhibidor de la agregación plaquetaria** (capítulo 51).

Desde el descubrimiento de la función del NO como vasodilatador, ha habido intenso interés experimental por esta molécula. Ha resultado que desempeña diversas funciones fisiológicas, que comprenden casi todos los tejidos del organismo (**cuadro 51-9**). Se han identificado tres isoformas importantes de la NO sintasa, cada una de las cuales se ha clonado y se han determinado las ubicaciones cromosómicas de sus genes en seres humanos. Se han realizado experimentos de noqueo de gen sobre cada una de las tres isoformas, y han ayudado a establecer algunas de las funciones postuladas del NO.

En resumen, la investigación efectuada durante el decenio pasado ha mostrado que el NO desempeña una función importante en muchos procesos fisiológicos y patológicos.

VARIOS MECANISMOS REABASTECEN LAS RESERVAS DE ATP EN EL MÚSCULO

El **ATP** requerido como la fuente de energía constante para el ciclo de contracción-relajación de músculo puede generarse: 1) mediante glucólisis, usando glucosa sanguínea o glucógeno muscular, 2) mediante fosforilación oxidativa, 3) a partir de fosfato de creatina y 4) a partir de dos moléculas de ADP en una reacción catalizada por adenilil cinasa (**figura 51-16**). La cantidad de ATP en el músculo esquelético sólo es suficiente para proporcionar

CUADRO 51-8 Resumen de la nomenclatura de las NO sintasas y de los efectos del nocaut de sus genes en ratones

Subtipo	Nombre[a]	Comentarios	Resultado del *knock out* de gen en ratones[b]
1	nNOS	La actividad depende de Ca^{2+}; se identificó por vez primera en neuronas; activada por calmodulina	Estenosis pilórica, resistente a apoplejía vascular, conducta sexual agresiva (machos)
2	iNOS[c]	Independiente de Ca^{2+} alto; prominente en macrófagos	Más susceptible a ciertos tipos de infección
3	eNOS	La actividad depende de Ca^{2+} alto; se identificó por vez primera en células endoteliales	Presión arterial media alta

[a] n, neuronal; i, inducible; e, endotelial.
[b] Los *knock out* de gen se efectuaron mediante recombinación homóloga en ratones. Las enzimas se caracterizan como neuronal, inducible (macrófago) y endotelial porque éstos fueron los sitios en los cuales se identificaron por vez primera. Aun así, las tres enzimas se han encontrado en otros sitios y la enzima neuronal también es inducible. Cada gen se ha clonado y se ha determinado su ubicación cromosómica en humanos.
[c] La iNOS es independiente de Ca^{2+} pero se une de manera muy estrecha a la calmodulina.
Fuente: Adaptado de Snyder SH: NO. Nature 1995;377:196.

CUADRO 51-9 Algunas funciones fisiológicas y afecciones patológicas del óxido nítrico (NO)

• Vasodilatador, importante en la regulación de la presión arterial
• Participa en la erección del pene; el citrato de sildenafil (Viagra) afecta este proceso al inhibir una cGMP fosfodiesterasa
• Neurotransmisor en el cerebro y el sistema nervioso autónomo periférico
• Participación en la potenciación a largo plazo
• Participación en la neurotoxicidad
• La concentración baja de NO está involucrada en la causa del piloros-pasmo en la estenosis pilórica hipertrófica en lactantes
• Quizá participe en la relajación del músculo esquelético
• Tal vez constituya parte de un sistema inmunitario primitivo
• Inhibe la adherencia, activación y agregación de plaquetas

energía para contracción durante algunos segundos, de modo que el ATP se debe renovar constantemente a partir de una o más de las fuentes anteriores, dependiendo de las condiciones metabólicas. Como se comenta más adelante, hay al menos **dos tipos de fibras** en el músculo esquelético, una predominantemente activa en condiciones **aeróbicas** y la otra en condiciones **anaeróbicas**; como es de esperarse, usan cada una de las fuentes de energía anteriores en diferentes grados.

El músculo esquelético contiene grandes cantidades de glucógeno

El sarcoplasma del músculo esquelético contiene grandes reservas de **glucógeno**, ubicadas en gránulos cerca de las bandas I. La liberación de glucosa a partir del glucógeno depende de una **glucógeno fosforilasa** muscular específica (capítulo 18), que puede ser activada por Ca^{2+}, adrenalina y AMP. Para generar glucosa 6-fosfato para glucólisis en el músculo esquelético, la glucógeno fosforilasa b debe activarse hacia fosforilasa mediante fosforilación por la fosforilasa b cinasa (capítulo 18). El Ca^{2+} promueve la activación de fosforilasa b cinasa, también mediante fosforilación. Así, el Ca^{2+} tanto inicia la contracción muscular como activa una vía para proporcionar la energía necesaria. La hormona **adrenalina** también activa la glucogenólisis en el músculo. El **AMP,** que se produce por desintegración del ADP durante el ejercicio muscular, también puede activar alostéricamente a la fosforilasa b. La glucógeno fosforilasa b muscular es inactiva en la **enfermedad de McArdle**, una de las enfermedades por depósito de glucógeno (capítulo 18).

En condiciones aeróbicas, el músculo genera ATP principalmente mediante fosforilación oxidativa

La síntesis de ATP por medio de **fosforilación oxidativa** requiere un aporte de oxígeno. Los músculos que tienen demanda alta de oxígeno como resultado de contracción sostenida (p. ej., para mantener la postura) lo almacenan unido a la porción hem de la **mioglobina**. Debido a la porción hem, los músculos que contienen mioglobina son de color rojo, mientras que aquellos con poca o ninguna mioglobina son de color blanco. La **glucosa**, derivada de la glucosa sanguínea o de glucógeno endógeno, y los **ácidos grasos** derivados de los triacilgliceroles del tejido adiposo, son los principales sustratos que se usan para el metabolismo aeróbico en el músculo.

El fosfato de creatina constituye una importante reserva de energía en el músculo

El **fosfato de creatina** evita el agotamiento rápido de ATP al proporcionar un fosfato de alta energía fácilmente disponible que puede usarse para regenerar ATP a partir de ADP. El fosfato de creatina se forma a partir de ATP y creatina (figura 51-16) en momentos en que el músculo está relajado y las demandas de ATP no son tan grandes. La enzima que cataliza la fosforilación de la creatina es la **creatina cinasa** (CK), una enzima específica para músculo que tiene utilidad clínica en la detección de enfermedades agudas o crónicas de este último.

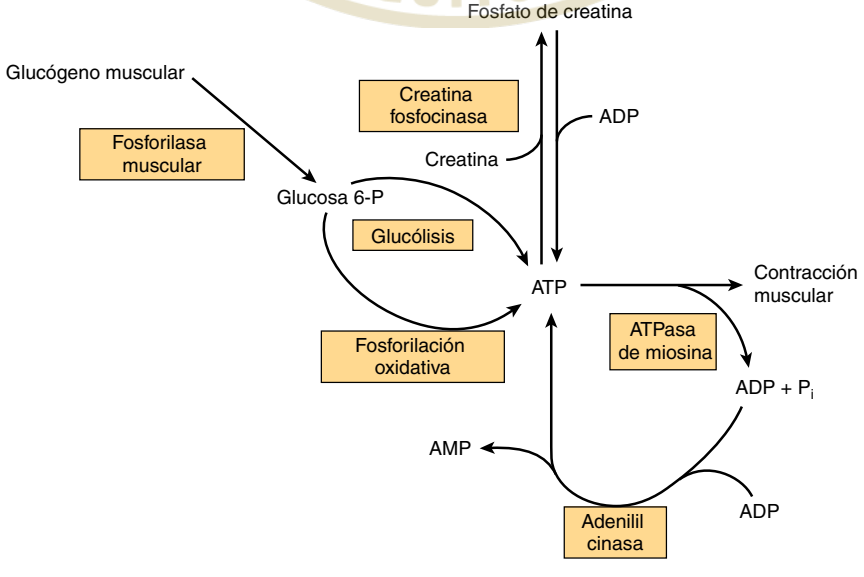


FIGURA 51-16 Las múltiples fuentes de ATP en el músculo.

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONTIENE FIBRAS DE CONTRACCIÓN LENTA (ROJAS) Y RÁPIDAS (BLANCAS)

Se han detectado diferentes tipos de fibras en el músculo esquelético. Una clasificación las subdivide en tipo I (de contracción lenta), tipo IIA (contracción rápida-oxidativa) y tipo IIB (contracción rápida-glucolítica). En aras de la sencillez, sólo se considerarán dos tipos: tipo I (contracción lenta, oxidativa) y tipo II (contracción rápida, glucolítica) (**cuadro 51-10**). Las fibras **tipo I** son rojas porque contienen mioglobina y mitocondrias; su metabolismo es aeróbico, y mantienen contracciones relativamente sostenidas. Las fibras **tipo II** carecen de mioglobina y contienen pocas mitocondrias, son de color blanco: obtienen su energía a partir de la glucólisis anaeróbica, y muestran duraciones de contracción relativamente breves. La **proporción** de estos dos tipos de fibras varía entre los músculos del cuerpo, dependiendo de la función (p. ej., si un músculo participa o no en la contracción sostenida, como el mantenimiento de la postura). La proporción también varía con el **entrenamiento**; por ejemplo, el número de fibras tipo I en ciertos músculos de las piernas aumenta en atletas que entrenan para maratones, mientras que el número de fibras tipo II se incrementa en corredores de velocidad o *sprinters*.

Un corredor de velocidad usa fosfato de creatina y glucólisis anaeróbica para sintetizar ATP, mientras que un maratonista emplea fosforilación oxidativa

En vista de los dos tipos de fibras en el músculo esquelético y de las diversas fuentes de energía ya descritas, es interesante comparar su participación en un *sprint* (p. ej., 100 m) y en el maratón (42.2 km; poco más de 26 millas) (**cuadro 51-11**).

Las principales fuentes de energía en el ***sprint* de 100 m** son el **fosfato de creatina** (primeros 4 a 5 segundos) y después la **glucólisis anaeróbica**, usando el glucógeno muscular como la fuente de glucosa. Los dos principales sitios de control metabólico están en la **glucógeno fosforilasa** y en la **PFK-1**. La primera se activa mediante el Ca^{2+} (liberado a partir del SR durante la contracción), adrenalina y AMP. La PFK-1 se activa por AMP, P_i y NH_3. El flujo por glucólisis puede aumentar hasta 1 000 veces durante un *sprint*, lo que atestigua la eficiencia de estos procesos.

En contraste, en el **maratón**, el **metabolismo aeróbico** es la principal fuente de ATP. Las principales fuentes de combustible son la **glucosa sanguínea** y los **ácidos grasos libres**, en su mayor parte derivados de la desintegración de triacilgliceroles en el tejido adiposo, estimulada por la epinefrina. El glucógeno hepático se degrada para mantener la concentración de glucosa en la sangre. El glucógeno muscular también es una fuente de combustible, pero se degrada de manera mucho más paulatina que en un *sprint*. Se ha calculado que durante un maratón la cantidad de glucosa en la sangre, glucógeno en el hígado, glucógeno en el músculo y triacilglicerol en el tejido adiposo es suficiente para proporcionar energía al músculo durante 4, 18, 70 y alrededor de 4 000 minutos, respectivamente. Sin embargo, la tasa de oxidación de ácidos grasos por el músculo es más lenta que la de glucosa, de modo que la oxidación de glucosa y de ácidos grasos es una fuente importante de energía en el maratón.

Los atletas han usado diversos procedimientos para contrarrestar la fatiga muscular y la fuerza inadecuada, entre los cuales se incluyen **carga de carbohidratos**, **carga de soda (bicarbonato de sodio)**, **dopaje con sangre** (administración de eritrocitos), e ingestión de **creatina** y **androstenediona**.

CUADRO 51-10 Características de las fibras tipo I y II del músculo esquelético

	Tipo I contracción lenta	Tipo II contracción rápida
ATPasa de miosina	Baja	Alta
Utilización de energía	Baja	Alta
Mitocondrias	Muchas	Pocas
Color	Rojo	Blanco
Mioglobina	Sí	No
Índice de contracción	Lento	Rápido
Duración	Prolongada	Breve

CUADRO 51-11 Tipos de fibras musculares y principales fuentes de combustibles usadas por un *sprinter* y por un corredor de maratón

***Sprinter* (100 m)**	**Maratonista**
Se usan de manera predominante fibras tipo II (glucolíticas)	Se usan de manera predominante fibras tipo I (oxidativas)
El fosfato de creatina es la principal fuente de energía durante los primeros 4 a 5 seg	El ATP es la principal fuente de energía de principio a fin
La glucosa derivada del glucógeno muscular y metabolizada mediante glucólisis anaeróbica es la principal fuente de combustible.	La glucosa y los ácidos grasos libres en la sangre son las principales fuentes de combustible
El glucógeno muscular se agota con rapidez	El glucógeno muscular se agota con lentitud

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONSTITUYE LA PRINCIPAL RESERVA DE PROTEÍNA EN EL ORGANISMO

En humanos, la **proteína del músculo esquelético** es la principal fuente de energía almacenada que no es grasa. Esto explica las pérdidas muy grandes de masa muscular, particularmente en adultos, originadas por nutrición calórica insuficiente prolongada.

Es difícil estudiar *in vivo* la **desintegración de proteína hística**, porque los aminoácidos que se liberan durante la desintegración de proteína intracelular pueden reutilizarse de manera extensa para la síntesis de proteína dentro de las células. Los aminoácidos también pueden transportar hacia otros órganos donde entran en vías anabólicas. Empero, la actina y miosina se metilan mediante una reacción postraduccional que forma **3-metilhistidina**. Durante la desintegración intracelular de actina y miosina, se libera 3-metilhistidina y se excreta hacia la orina. El gasto urinario del aminoácido metilado proporciona un índice fiable del índice de desintegración de proteínas miofibrilares en la musculatura de humanos.

El **cuadro 51-12** resume diversas características del metabolismo muscular, la mayor parte de las cuales se aborda en otros capítulos de este libro.

EL CITOESQUELETO DESEMPEÑA MÚLTIPLES FUNCIONES CELULARES

Las células no musculares desempeñan trabajo mecánico, lo que incluye autopropulsión, morfogénesis, división, endocitosis, exocitosis, transporte intracelular y cambio de la forma de la célula.

CUADRO 51-12 Resumen de las principales características de las propiedades bioquímicas del músculo esquelético relacionadas con su metabolismo[1]

- El músculo esquelético funciona en condiciones tanto aeróbicas (en reposo) como anaeróbicas (p. ej., *sprints*), de modo que opera la glucólisis tanto aeróbica como anaeróbica, dependiendo de las condiciones
- El músculo esquelético contiene mioglobina como un reservorio de oxígeno
- El músculo esquelético contiene diferentes tipos de fibras principalmente idóneas para condiciones anaeróbicas (fibras de contracción rápida) o aeróbicas (fibras de contracción lenta)
- La actina, la miosina, tropomiosina, complejo de troponina (TpT, Tpl y TpC), ATP y Ca^{2+}, son constituyentes clave en relación con la contracción
- La Ca^{2+} ATPasa, el canal de liberación de Ca^{2+} + y la calsecuestrina son proteínas que participan en diversos aspectos del metabolismo del Ca^{2+} en el músculo
- La insulina actúa sobre el músculo esquelético para aumentar la captación de glucosa
- En el estado posprandial, casi toda la glucosa se usa para sintetizar glucógeno, que actúa como una reserva de glucosa para uso en el ejercicio; algunos atletas de larga distancia usan "precarga" con glucosa para aumentar las reservas de glucógeno
- La adrenalina estimula la glucogenolisis en el músculo esquelético, mientras que el glucagón no lo hace debido a la ausencia de sus receptores
- El músculo esquelético no puede contribuir de manera directa a la glucosa sanguínea porque carece de glucosa-6-fosfatasa
- El lactato producido por el metabolismo anaeróbico en el músculo esquelético pasa hacia el hígado, que lo usa para sintetizar glucosa, que después puede regresar al músculo (el ciclo de Cori)
- El músculo esquelético contiene fosfocreatina, que actúa como una reserva de energía para demandas a corto plazo (segundos)
- Los ácidos grasos libres en el plasma son una fuente importante de energía, particularmente en condiciones de maratón y en la inanición prolongada
- El músculo esquelético puede utilizar cuerpos cetónicos durante la inanición
- El músculo esquelético es el principal sitio de metabolismo de aminoácidos de cadena ramificada, que se usan como fuente de energía
- La proteólisis del músculo durante la inanición proporciona aminoácidos para gluconeogénesis
- Los aminoácidos importantes que emanan del músculo son alanina (destinada principalmente para gluconeogénesis en el hígado y que forma parte del ciclo de la glucosa-alanina) y glutamina (destinada esencialmente para el intestino y los riñones)

[1] Este cuadro une material de diversos capítulos de este libro.

CUADRO 51-13 Algunas propiedades de los microfilamentos y microtúbulos

	Microfilamentos	Microtúbulos
Proteína(s)	Actina	α y β-tubulinas
Diámetro	8 a 9 nm	25 nm
Funciones	Estructural, motilidad	Estructural, motilidad, polaridad

Nota: El cuadro 51-14 describe algunas propiedades de los filamentos intermedios.

Estas funciones celulares se llevan a cabo mediante una extensa red intracelular de estructuras filamentosas que constituyen el **citoesqueleto**. El citoplasma celular no es un saco de líquido, como alguna vez se creyó. En esencia, todas las células eucarióticas contienen tres tipos de estructuras filamentosas: **filamentos de actina** (también conocidos como microfilamentos), **microtúbulos** y **filamentos intermedios**. Cada tipo de filamento puede distinguirse desde el punto de vista bioquímico y mediante el microscopio electrónico. Los cuadros **51-13** y **51-14** resumen algunas propiedades de estas tres estructuras.

Las células no musculares contienen actina que forma microfilamentos

La **actina G** está presente en casi todas las células del cuerpo, si no es que en todas. Con concentraciones apropiadas de magnesio y cloruro de potasio, se polimeriza de manera espontánea para formar filamentos de **actina F** de doble hélice como los que

CUADRO 51-14 Clases de filamentos intermedios en células eucarióticas y sus distribuciones

Proteínas	Masa molecular (kDa)	Distribuciones
Laminas		
A, B y C	65-75	Lamina nuclear
Queratinas		
Tipo I (ácida)	40-60	Células epiteliales, pelo, uñas
Tipo II (básica)	50-70	Como para el tipo I (acídico)
Parecida a vimentina		
Vimentina	54	Diversas células mesenquimatosas
Desmina	53	Músculo
Proteína ácida fibrilar glial	50	Células gliales
Periferina	66	Neuronas
Neurofilamentos		
Baja (L), media (M) y alta (H)[1]	60-130	Neuronas

[1] Se refiere a sus masas moleculares.

Nota: Los filamentos intermedios tienen un diámetro aproximado de 10 nm y desempeñan diversas funciones. Por ejemplo, las queratinas están distribuidas ampliamente en células epiteliales y se adhieren por medio de proteínas adaptadoras a desmosomas y hemidesmosomas. Las laminas proporcionan apoyo para la membrana nuclear.

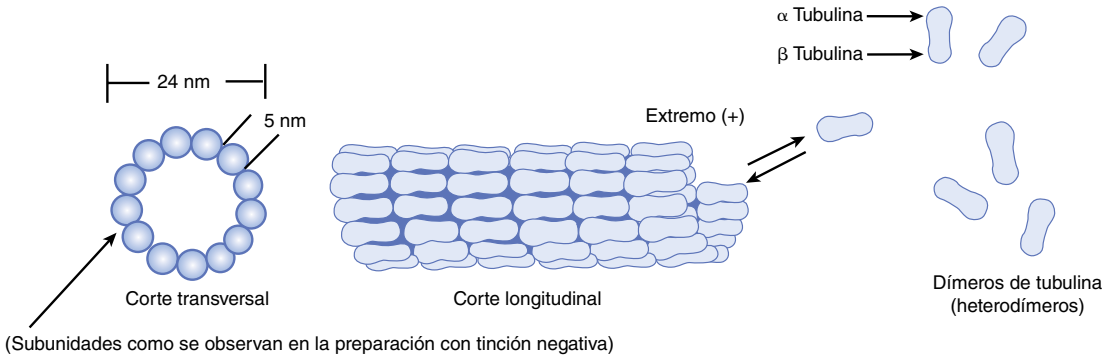


FIGURA 51-17 Representación esquemática de microtúbulos. En la parte superior izquierda se muestra un dibujo de microtúbulos como se observa en la microscopia electrónica después de fijación con ácido tánico en glutaraldehído. El ácido tánico denso delinea las subunidades de tubulina no teñidas. Los cortes transversales de túbulos revelan un anillo de 13 subunidades de dímeros dispuestos en una espiral. Los cambios de la longitud de microtúbulos se deben a la adición o pérdida de subunidades de tubulina individuales. Se encuentran disposiciones características de microtúbulos (que no se muestran aquí) en centríolos, cuerpos basales, cilios y flagelos. (Reproducido, con autorización, de Junqueirai LC, Carneiro J, Kelley RO: *Basic Histology,* 7th ed. Appleton & Lange, 1992).

se observan en el músculo. Hay al menos dos tipos de actina en células no musculares: β-actina y γ-actina. Ambos tipos pueden coexistir en la misma célula, y probablemente incluso copolimerizarse en el mismo filamento. En el citoplasma, la **actina F** forma **microfilamentos** de 7 a 9.5 nm que suelen existir como fascículos de una red de aspecto enmarañado. Estos fascículos son notorios justo por debajo de la membrana plasmática de muchas células, y se denominan **fibras de estrés**. Dichas fibras desaparecen a medida que la motilidad celular aumenta o en el momento de transformación maligna de células por sustancias químicas o virus oncogénicos.

Aunque no están organizados como en el músculo, los filamentos de actina en células no musculares interactúan con **miosina** para causar movimientos celulares.

Los microtúbulos contienen α- y β-tubulinas

Los **microtúbulos**, un componente integral del citoesqueleto celular, constan de tubos citoplásmicos de 25 nm de diámetro, y a menudo de longitud extrema (**figura 51-17**). Los microtúbulos se necesitan para la formación y función del **huso mitótico** y, así, están presentes en todas las células eucarióticas. También participan en el movimiento intracelular de **vesículas** endocíticas y exocíticas, y forman los principales componentes estructurales de **cilios** y **flagelos**. Los microtúbulos son un componente importante de los **axones** y las **dendritas**, en los cuales mantienen la estructura y participan en el flujo axoplásmico de material a lo largo de estas prolongaciones neuronales.

Los **microtúbulos** son cilindros de 13 protofilamentos dispuestos de manera longitudinal, cada uno de los cuales consta de dímeros de **α-tubulina** y **β-tubulina**, proteínas estrechamente relacionadas de masa molecular de aproximadamente 50 kDa. Los dímeros de tubulina se montan hacia protofilamentos y después hacia hojas y posteriormente cilindros. Un centro organizador de microtúbulos, localizado alrededor de un par de centríolos, produce nucleación del crecimiento de nuevos microtúbulos. Una tercera especie de tubulina, la **γ-tubulina**, parece tener una función importante en este montaje. Se requiere **GTP** para el montaje. Diversas proteínas se relacionan con microtúbulos (**proteínas relacionadas con microtúbulos** [**MAP**], una de las cuales es **tau**) y tienen funciones importantes en el montaje y la estabilización de microtúbulos. Los microtúbulos se encuentran en un estado de inestabilidad dinámica; constantemente se montan y desmontan. Muestran **polaridad** (extremos positivo y negativo); esto es importante en su crecimiento a partir de centríolos, y en su capacidad para dirigir el movimiento intracelular. Por ejemplo, en el transporte axonal, la proteína **cinesina**, con una actividad de ATPasa parecida a miosina, usa hidrólisis de ATP para mover vesículas por el axón hacia el extremo positivo de la formación microtubular. La **dineína citosólica**, otra proteína con actividad de ATPasa, proporciona la energía para el flujo de materiales en la dirección opuesta, hacia el extremo negativo. De modo similar, las **dineínas axonémicas** proveen la energía para los movimientos ciliar y flagelar. Otra proteína, la **dinamina**, usa GTP, y participa en la endocitosis. Las cinesinas, dineínas, dinamina y miosinas se denominan **motores moleculares**.

La falta de dineína en los cilios y flagelos da por resultado inmovilidad de los mismos, y lleva a esterilidad masculina, *situs inversus* e infección respiratoria crónica, enfermedad conocida como el **síndrome de Kartagener** (OMIM 244400). En individuos con este síndrome se han detectado mutaciones en genes que afectan la síntesis de dineína.

Ciertos **fármacos** se unen a microtúbulos y, así, interfieren con su montaje y desmontaje. Entre ellos se encuentran **colchicina** (que se usa para tratar artritis gotosa aguda), **vinblastina** (un alcaloide de la vinca usado para tratar ciertos tipos de cáncer), **paclitaxel** (eficaz contra cáncer ovárico) y **griseofulvina** (antimicótico).

Los filamentos intermedios difieren de los microfilamentos y los microtúbulos

Existe un sistema fibroso intracelular de filamentos con una periodicidad axial de 21 nm y un diámetro de 8 a 10 de nm que es intermedio entre el de microfilamentos (6 nm) y microtúbulos (23 nm). Se encuentran al menos cuatro clases de **filamentos intermedios** (cuadro 51-14).

Todos son moléculas alargadas, fibrosas, con un dominio de varilla central, una cabeza amino terminal, y una cola carboxilo terminal. Forman una estructura como una cuerda, y los

filamentos maduros están compuestos de tetrámeros apretados entre sí de una manera helicoidal. Son componentes estructurales importantes de las células, y casi todos son componentes **relativamente estables** del citoesqueleto, que no pasan por montaje y desmontaje rápidos, y no desaparecen durante la mitosis, como lo hacen la actina y muchos otros filamentos microtubulares.

Una importante excepción a esto son las **laminas** que, después de fosforilación, se desmontan en el momento de la mitosis y reaparecen cuando termina. Las **laminas** forman una red en yuxtaposición con la membrana nuclear interna.

Las mutaciones en el gen que codifica para **lamina A** y lamina C causan síndrome de progeria, de Hutchinson-Gilford **(progeria)** (OMIM 176670), caracterizado por **envejecimiento acelerado** y otras características. Una forma farnesilada (en la figura 26-2 se presenta la estructura del farnesil) de prelamina A se acumula en la enfermedad, porque la mutación altera el sitio de acción proteolítica normal para dividir la porción farnesilada de la lamina A. La lamina A es un importante componente del andamiaje estructural que mantiene la integridad del núcleo de una célula. Parece ser que la acumulación de la prelamina A farnesilada hace inestables a los núcleos, lo que altera su forma, y de algún modo esto predispone a la aparición de signos de envejecimiento prematuro. Experimentos en ratones han indicado que la administración de un inhibidor de la farnesiltransferasa puede aminorar la aparición de núcleos deformes. Los niños afectados por esta enfermedad a menudo mueren durante la adolescencia por aterosclerosis. En la **figura 51-18** se muestra un breve esquema de la causa de la progeria.

Las **queratinas** forman una familia grande; se distinguen alrededor de 30 miembros. Se encuentran dos tipos principales de queratinas (**cuadro 51-14**); todas las queratinas individuales son **heterodímeros** constituidos por un miembro de cada clase.

Las **vimentinas** están ampliamente distribuidas en células mesodérmicas, y la desmina, la proteína ácida fibrilar glial, y la periferina, se relacionan con ellas. Todos los miembros de la familia parecida a vimentina se pueden copolimerizar entre sí.

Los filamentos intermedios son muy prominentes en las células nerviosas; los neurofilamentos se clasifican como bajos, medios y altos con base en su masa molecular. La **distribución de filamentos intermedios** en células normales y anormales (p. ej., cancerosas) puede estudiarse mediante el uso de técnicas de inmunofluorescencia, usando anticuerpos de especificidades apropiadas. Estos anticuerpos contra filamentos intermedios específicos también pueden ser útiles a los patólogos al ayudarlos a determinar el origen de ciertos tumores malignos desdiferenciados. Estos tumores aún pueden retener el tipo de filamentos intermedios que se encuentran en su célula de origen.

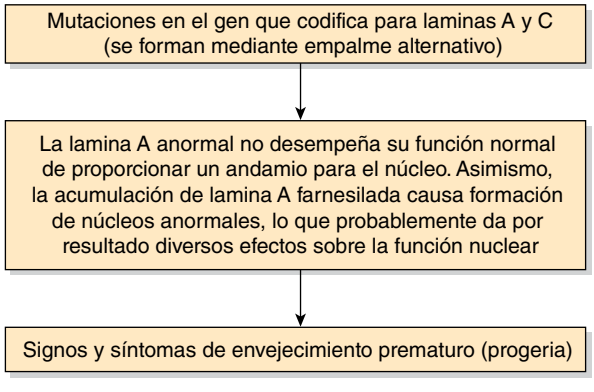


FIGURA 51-18 Esquema de la causa de la progeria (síndrome de Hutchinson-Gilford, OMIM 176670).

Se ha encontrado que diversas **enfermedades cutáneas**, principalmente caracterizadas por formación de vesículas, se deben a mutaciones en los genes que codifican para **diversas queratinas**. Dos de estos trastornos son la epidermólisis ampollar simple (OMIM 131800) y la queratodermia palmoplantar epidermolítica (OMIM 144200). La formación de **vesículas** que se encuentra en estos trastornos probablemente refleja capacidad disminuida de diversas capas de la piel para resistir a tensiones mecánicas debido a anormalidades de la estructura de la queratina.

RESUMEN

- Las miofibrillas del músculo esquelético contienen filamentos gruesos y delgados. Los filamentos gruesos contienen miosina, y los delgados, actina, tropomiosina y el complejo de troponina (troponinas T, I y C).
- El modelo del puente transversal de filamento deslizante es el fundamento del pensamiento actual acerca de la contracción muscular. La base de este modelo es que los filamentos que muestran interdigitación se deslizan más allá uno de otro durante la contracción, y los puentes transversales entre miosina y actina generan la tensión y la sostienen.
- La hidrólisis de ATP se usa para impulsar el movimiento de filamentos. El ATP se une a cabezas de miosina y se hidroliza hacia ADP y P_i mediante la actividad de ATPasa del complejo de actomiosina.
- El Ca^{2+} desempeña una función clave en el inicio de la contracción muscular al unirse a la troponina C. En el músculo esquelético, el retículo sarcoplásmico regula la distribución de Ca^{2+} hacia los sarcómeros, mientras que el flujo hacia dentro de Ca^{2+} mediante canales de Ca^{2+} en el sarcolema tiene gran importancia en los músculos cardíaco y liso.
- Muchos casos de hipertermia maligna en humanos se deben a mutaciones en el gen que codifica para el canal de liberación de Ca^{2+}.
- Hay varias diferencias entre los músculos esquelético y cardíaco; en particular, este último contiene diversos receptores sobre su superficie.
- Algunos casos de miocardiopatía hipertrófica familiar se deben a mutaciones sin sentido en el gen que codifica para cadena pesada de β-miosina. También se han detectado mutaciones en genes que codifican para varias otras proteínas.
- El músculo liso, a diferencia de los músculos esquelético y cardíaco, no contiene el sistema de troponina; en su lugar, la fosforilación de cadenas ligeras de miosina inicia la contracción.
- El óxido nítrico (NO) es un regulador del músculo liso vascular; el bloqueo de su formación a partir de arginina causa un aumento agudo de la presión arterial, lo que indica que la regulación de esta última es una de sus principales funciones.
- La distrofia muscular tipo Duchenne se debe a mutaciones en el gen, localizado en el cromosoma X, que codifica para la proteína distrofina.
- Dos tipos importantes de fibras musculares se encuentran en seres humanos: blancas (anaeróbicas) y rojas (aeróbicas). Las primeras

se usan particularmente en los *sprint* y las segundas en ejercicio aeróbico prolongado. Durante un *sprint*, el músculo usa fosfato de creatina y glucólisis como fuentes de energía; en el maratón, la oxidación de ácidos grasos tiene gran importancia durante las fases más tardías.

- Las células no musculares desempeñan diversos tipos de trabajo mecánico llevado a cabo por las estructuras que constituyen el citoesqueleto. Estas estructuras incluyen filamentos de actina (microfilamentos), microtúbulos (compuestos principalmente de α-tubulina y β-tubulina), y filamentos intermedios. Estos últimos incluyen laminas, queratinas, proteínas parecidas a vimentina, y neurofilamentos. Las mutaciones en el gen que codifica para lamina A causan progeria, enfermedad caracterizada por envejecimiento prematuro. Las mutaciones en genes que codifican para ciertas queratinas provocan diversas enfermedades de la piel.

REFERENCIAS

Barrett KE, Barman SM, Boitano S, *et al*: *Ganong's Review of Medical Physiology*, 24th ed. McGraw-Hill Lange, 2012.

Blanchoin L, Bouiemaa-Paterski R, Sykes C, Plastino J: Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility. Physiol Rv 2014;94:235.

Brosnan JT, Brosnan ME: Creatine: endogenous metabolite, dietary and therapeutic supplement. Annu Rev Nutr 2007;27:241.

Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*, 5th ed. Sinauer Associates Inc., 2009.

Kull FJ, Endow SA: Force generation by kinesin and myosin cytoskeleton proteins. J Cell Sci 2013;126:9.

Murad F: Nitric oxide and cyclic GMP in cell signalling and drug development. N Engl J Med 2006;355:2003.

Murphy RT, Starling RC: Genetics and cardiomyopathy: where are we now? Cleve Clin J Med 2005;72:465.

Neubauer S: The failing heart—an engine out of fuel. N Engl J Med 2007;356:1140.

Pritchard RH, Shery Huang YY, Terentiev EM: Mechanics of biological networks: from the cell cytoskeleton to connective tissue. Soft Matter 2014;10:1864.

Sanders KM: Regulation of smooth muscle excitation and contraction. Neurogastroenterol Motil 2008;20 Suppl 1:39.

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, *et al* (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Sequeira V, Nijenkamp LL, Regan JA, Van der Velden J: The physiological role of cardiac cytoskeleton and its alterations in heart failure. Biochim Biophys Acta 2014;1838:700.

Sweeney HL, Houdusse A: Structural and functional insights into the myosin motor mechanism. Annu Rev Biophys 2010;39:539.

Taimen P, Pfleghaar K, Shimi T, *et al*: A progeria mutation reveals functions for lamin A in nuclear assembly, architecture, and chromosome organization. Proc Natl Acad Sci USA 2009;106(49):20788.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO

52

Proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas

Peter J. Kennelly, PhD, Robert K. Murray, MD, PhD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD & Joe Varghese, MBBS, MD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Listar las principales funciones de la sangre.
- Describir las principales funciones de la albúmina sérica.
- Explicar cómo la haptoglobina protege a los riñones contra la formación de precipitados de hierro perjudiciales.
- Describir las funciones de la ferritina, transferrina y ceruloplasmina en la homeostasis del hierro.
- Describir el mecanismo mediante el cual la transferrina, los receptores de transferrina y la proteína HFE interactúan para regular la síntesis de hepcidina, un regulador clave de la homeostasis del hierro.
- Explicar cómo la homeostasis del hierro puede perturbarse por deficiencias en la dieta o por ciertos trastornos.
- Describir las estructuras y funciones generales de las cinco clases de inmunoglobulinas, y los usos de los anticuerpos monoclonales.
- Explicar cómo el cuerpo humano es capaz de sintetizar hasta un millón de inmunoglobulinas diferentes utilizando menos de 150 genes.
- Describir cómo el sistema de complemento queda activado y después produce lisis de microorganismos invasores.
- Explicar cómo el sistema inmunitario adaptativo del organismo difiere de su sistema inmunitario innato.
- Definir el término lectina.
- Esbozar las diferencias clave entre anticuerpos policlonales y monoclonales.
- Explicar las características sobresalientes de trastornos autoinmunitarios y de inmunodeficiencia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas que circulan en el plasma sanguíneo desempeñan funciones importantes en la fisiología humana. Las **albúminas** facilitan el tránsito de ácidos grasos, hormonas esteroides y otros ligandos entre tejidos. La **transferrina** ayuda a la captación y distribución de hierro, un componente de muchas metaloproteínas de importancia crucial. El **fibrinógeno** circulante sirve como un bloque de construcción de la red de fibrina, que se moviliza fácilmente y que proporciona el fundamento de los coágulos que se utilizan para sellar vasos lesionados. La formación de coágulo es desencadenada por una cascada de factores de coagulación de la sangre, proteasas latentes que en circunstancias normales circulan como proproteínas inactivas o **zimógenos**. El plasma también contiene varias proteínas que funcionan como inhibidores de enzimas proteolíticas. La **antitrombina** ayuda a confinar la formación de coágulos a la vecindad de una herida, mientras que la α_1-antiproteinasa y la α_2-macroglobulina evitan que las proteasas que se usan para destruir agentes patógenos invasores y células muertas o defectuosas dañen tejido sano. Inmunoglobulinas circulantes llamadas **anticuerpos** forman la línea frontal del sistema inmunitario del cuerpo.

Las perturbaciones de la producción de proteínas plasmáticas pueden tener serias consecuencias para la salud. Las deficiencias en componentes clave de la cascada de coagulación de la sangre pueden dar por resultado equimosis y sangrado excesivos (**hemofilia**). Las personas que carecen de ceruloplasmina plasmática, el transportador primario de cobre del organismo, están sujetas a degeneración hepatolenticular (enfermedad de Wilson), mientras que el enfisema se asocia con una deficiencia genética en la producción de α_1-antiproteinasa circulante. La producción aberrante de inmunoglobulinas caracteriza los muchos **tras-**

CUADRO 52-1 Prevalencia de enfermedades autoinmunitarias seleccionadas entre la población estadounidense

Enfermedad autoinmunitaria	Tasa de prevalencia media (por 100 000)	Porcentaje del sexo femenino
Enfermedad de Graves/ hipertiroidismo	1 152	88
Artritis reumatoide	860	75
Tiroiditis/ hipotiroidismo	792	95
Vitiligo	400	52
Diabetes tipo 1	192	48
Anemia perniciosa	151	67
Esclerosis múltiple	58	64
Glomerulonefritis primaria	40	32
Lupus eritematoso sistémico	24	88
Glomerulonefritis por IgA	23	67
Síndrome de Sjögren	14	94
Miastenia grave	5	73
Enfermedad de Addison	5	93
Esclerodermia	4	92

Fuente: datos tomados de Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NMH: Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. J Clin Immunol Immunopathol 1997;84:223.

tornos autoinmunitarios, como la diabetes tipo 1, el asma y la artritis reumatoide, que afectan a más de 1 de cada 30 residentes de la parte no latina de América (**cuadro 52-1**). Las insuficiencias en la producción de anticuerpos protectores, como ocurre en muchas personas infectadas por el **virus de la inmunodeficiencia humana** (HIV) o en pacientes a quienes se administran fármacos inmunosupresores, hace que presenten alteraciones inmunitarias y que sean en extremo susceptibles a infección por microbios y virus patógenos, además de vulnerables a su diseminación. Mientras que las causas fundamentales de enfermedades relacionadas con proteínas plasmáticas, como la hemofilia, son relativamente sencillas, otras (en particular muchos trastornos autoinmunitarios) surgen debido a la compleja y crítica interacción de factores genéticos, de la dieta, nutricionales, ambientales y médicos.

LA SANGRE TIENE MUCHAS FUNCIONES

Como la avenida primaria mediante la cual los tejidos están conectados entre sí y con el ambiente circundante, la sangre que circula en todo el organismo desempeña diversas funciones. Entre ellas se cuenta suministrar nutrientes y oxígeno, eliminar productos de desecho, transportar hormonas y defender contra microorganismos infecciosos (**cuadro 52-2**). Estas muchísimas funciones son llevadas a cabo por un conjunto diverso de componentes que incluyen entidades celulares, como eritrocitos, plaquetas y leucocitos (capítulos 53 y 54), y el agua, los electrolitos, los metabolitos, nutrientes, proteínas y hormonas que comprenden el **plasma**.

CUADRO 52-2 Principales funciones de la sangre

1.	**Respiración.** Transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos, y de CO_2 de los tejidos a los pulmones
2.	**Nutrición.** Transporte de materiales alimentarios absorbidos
3.	**Excreción.** Transporte de desechos metabólicos a los riñones, los pulmones, la piel y los intestinos para eliminación
4.	Mantenimiento del **equilibrio acidobásico** normal en el organismo
5.	Regulación del **equilibrio de agua** por medio de los efectos de la sangre sobre el intercambio de agua entre el líquido circulante y el líquido tisular
6.	Regulación de la **temperatura corporal** por medio de la distribución del calor corporal
7.	**Defensa** contra infección mediante los leucocitos y los anticuerpos circulantes
8.	Transporte de **hormonas** y regulación del metabolismo
9.	Transporte de **metabolitos**
10.	**Coagulación**

EL PLASMA CONTIENE UNA MEZCLA COMPLEJA DE PROTEÍNAS

El plasma contiene una mezcla compleja de proteínas, muchas de las cuales tienen números altos de enlaces disulfuro, así como carbohidratos o lípidos unidos por enlaces covalentes (**glucoproteínas** o **lipoproteínas**). Con base en su solubilidad relativa en presencia de un solvente orgánico como etanol, o agentes para precipitación salina, como el sulfato de amonio, los primeros investigadores separaron las proteínas plasmáticas en tres grupos: **fibrinógeno**, **albúmina** y **globulinas**. Después, científicos clínicos emplearon electroforesis dentro de una matriz de **acetato de celulosa** para analizar la composición de proteínas del plasma. Después de separación electroforética, reactivos de coloración revelaron cinco bandas principales que se designaron **fracciones albúmina**, α_1, α_2, **β** y **γ**, respectivamente (**figura 52-1**). En la **figura 52-2** se muestran las dimensiones relativas y las masas moleculares de varias proteínas plasmáticas.

Las proteínas plasmáticas ayudan a determinar la distribución de líquido entre sangre y tejidos

La concentración agregada de las proteínas presentes en el plasma típicamente cae dentro del rango de 7.0 a 7.5 g/dL para humanos. La **presión osmótica** (presión oncótica) ejercida por las proteínas plasmáticas es de alrededor de 25 mmHg. Puesto que la **presión hidrostática** en las arteriolas es de aproximadamente 37 mmHg, con una presión intersticial (tisular) de 1 mmHg que se opone a ella, una fuerza hacia afuera neta de alrededor de 11 mmHg impulsa líquido hacia afuera, hacia los espacios intersticiales. En las vénulas, la presión hidrostática es de alrededor de 17 mmHg, y las presiones oncótica e intersticial son como ya se describió; de este modo, una fuerza neta de aproximadamente 9 mmHg atrae agua de regreso a la circulación. Las presiones anteriores a menudo se denominan las **fuerzas de Starling**. Si la concentración de proteínas plasmáticas está notoriamente disminuida (p. ej., debido a malnutrición proteínica grave), el líquido ya no fluirá de regreso hacia el compartimiento intravascular. La acumulación

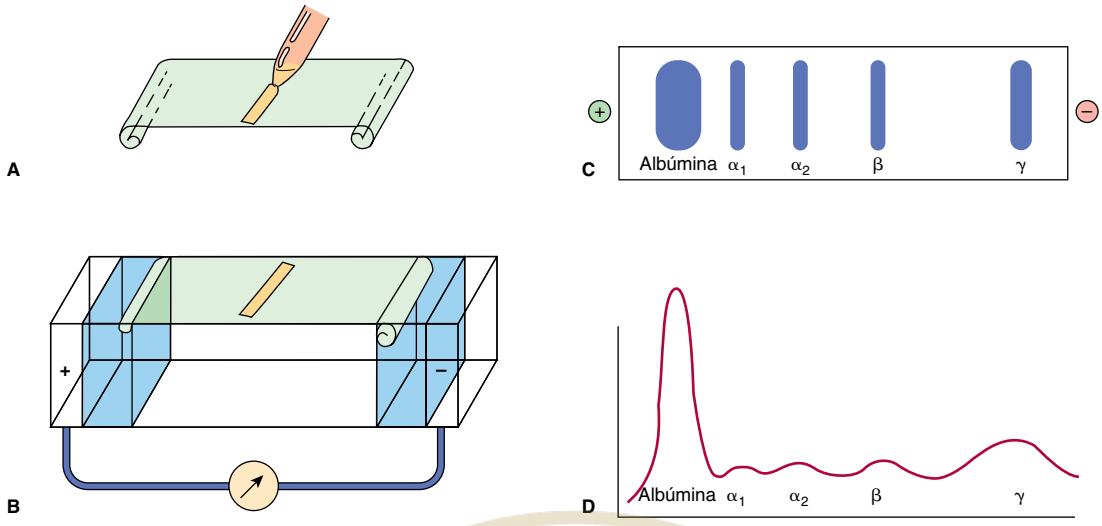


FIGURA 52-1 Técnica de electroforesis de zona en acetato de celulosa. A) Una cantidad pequeña de suero u otro líquido se aplica a una tira de acetato de celulosa. **B)** Se efectúa electroforesis en amortiguador de electrólito. **C)** La tinción permite visualizar bandas de proteína separadas. **D)** El escaneo con densitómetro revela las movilidades relativas de la albúmina, la α_1-globulina, β_2-globulina, β-globulina y γ-globulina. (Reproducido, con autorización, de Parslow TG *et al* (editors): *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001).

resultante de líquido en los espacios tisulares extravasculares da por resultado un estado conocido como **edema**.

Casi todas las proteínas plasmáticas son sintetizadas en el hígado

Alrededor de 70 a 80% de las proteínas plasmáticas es sintetizado en el hígado, entre ellas se incluyen albúmina, fibrinógeno, transferrina y casi todos los componentes del complemento y de la cascada de la coagulación de la sangre, con la excepción del factor de Von Willebrand, que es sintetizado en el endotelio vascular. Una excepción notoria son las γ-globulinas, que son sintetizadas en los linfocitos. Casi todas las proteínas plasmáticas son modificadas de manera covalente por la adición de cadenas de oligosacárido N-enlazadas u O-enlazadas, o ambas (capítulo 46). La albúmina es la principal excepción. Estas cadenas de oligosacárido desempeñan diversas funciones (cuadro 46-2). La pérdida de residuos de ácido siálico terminales acelera la depuración de glucoproteínas plasmáticas desde la circulación.

Como sucede con otras proteínas destinadas para secreción desde una célula, los genes que codifican para proteínas plasmáticas codifican para una **secuencia señal** amino terminal que las dirige al retículo endoplasmático. A medida que esta secuencia líder surge desde el ribosoma, se une a un complejo proteínico transmembrana en el retículo endoplasmático llamado la **partícula de reconocimiento de señal**. La cadena polipeptídica que está surgiendo es jalada a través de dicha partícula hacia la luz del retículo endoplasmático, proceso durante el cual la secuencia líder es separada por una **señal peptidasa** (capítulo 49). Las proteínas recién sintetizadas a continuación cruzan la ruta secretora principal en la célula (membrana del retículo endoplasmático rugoso → membrana del retículo endoplasmático liso → aparato de Golgi → vesículas secretoras) antes de entrar al plasma, proceso durante el cual quedan sujetas a diversas modificaciones postraduccionales (proteólisis, glucosilación, fosforilación, etc.). Los tiempos de tránsito por el hepatocito desde el sitio de síntesis al plasma varían de 30 minutos a varias horas para proteínas individuales.

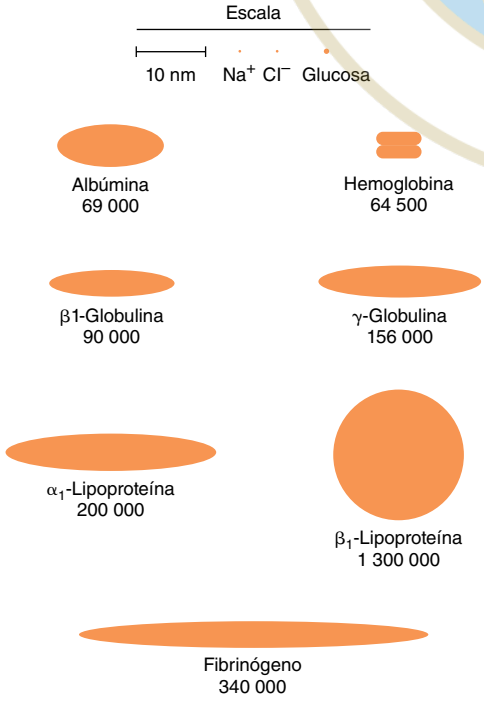


FIGURA 52-2 Dimensiones relativas y masas moleculares aproximadas de moléculas de proteína en la sangre.

Muchas proteínas plasmáticas muestran polimorfismo

Un **polimorfismo** es un rasgo mendeliano o monogénico que existe en la población en al menos dos fenotipos, ninguno de los cuales es raro (esto es, ninguno de los cuales ocurre con frecuencia de < 1 a 2%). Las sustancias del grupo sanguíneo ABO

(capítulo 53) son los mejores ejemplos conocidos de polimorfismos humanos. Otras proteínas plasmáticas del humano que muestran polimorfismo son la α_1-antitripsina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina e inmunoglobulinas. Casi todos los polimorfismos son inocuos.

Cada proteína plasmática tiene una vida media característica en la circulación

La **vida media** de una proteína plasmática es el tiempo que se requiere para que 50% de las moléculas presentes en cualquier momento dado se ha degradado o por lo demás depurado de la sangre. En circunstancias normales, el **recambio** (o reemplazo) resultante de moléculas de proteína más viejas por otras recién sintetizadas ocurre sin cambio alguno de su concentración total. En otras palabras, los procesos compensatorios de síntesis y depuración alcanzan un **estado estable** en el cual no hay incremento o decremento neto evidente en el ámbito macroscópico, o macromolecular.

Las vidas medias de la albúmina y de la haptoglobina En adultos sanos normales son de alrededor de 20 y 5 días, respectivamente. En ciertas enfermedades, la vida media de una proteína puede estar notoriamente alterada. Por ejemplo, en algunas enfermedades gastrointestinales, como la ileítis regional (enfermedad de Crohn), pueden perderse cantidades considerables de proteínas plasmáticas, incluso albúmina, hacia el intestino a través de la mucosa intestinal inflamada. Los pacientes que tienen esta enfermedad presentan una **gastroenteropatía perdedora de proteína**. La vida media de la albúmina en estos sujetos puede estar reducida a tan poco como un día.

LA ALBÚMINA ES LA PRINCIPAL PROTEÍNA EN EL PLASMA HUMANO

El hígado sintetiza alrededor de 12 g de albúmina por día, lo cual representa aproximadamente 25% de la síntesis total de proteína hepática y la mitad de su proteína secretada. Alrededor de 40% de la albúmina del organismo circula en el plasma, donde explica aproximadamente tres quintas partes de la proteína plasmática total por peso (3.4 a 4.7 g/dL). El resto reside en el espacio extracelular. Debido a su masa molecular relativamente baja (aproximadamente 69 kDa) y concentración alta, se cree que 75 a 80% de la **presión osmótica** del plasma humano depende de la albúmina. Al igual que casi todas las otras proteínas secretadas, la albúmina inicialmente se sintetiza como una **preproteína**. Su **péptido señal** es eliminado conforme pasa hacia las cisternas del retículo endoplasmático rugoso y un **hexapéptido** en el amino terminal resultante después es separado más lejos a lo largo de la vía secretora (figura 49-12).

La albúmina humana madura consta de una cadena polipeptídica única de 585 aminoácidos de longitud que está organizada hacia tres dominios funcionales. Su conformación elipsoidal es estabilizada por un total de 17 enlaces disulfuro intracadena. Una de las principales funciones de la albúmina es unirse a muchos **ligandos** y, así, facilitar el transporte de los mismos. Éstos incluyen ácidos grasos libres (FFA), calcio, ciertas hormonas esteroides, bilirrubina, cobre y parte del triptófano plasmático. Diversos fármacos, entre ellos sulfonamidas, penicilina G, dicumarol y aspirina, están unidos a albúmina; este dato tiene implicaciones farmacológicas importantes. Preparaciones de albúmina humana se han usado ampliamente en el tratamiento de quemaduras y de choque hemorrágico.

Algunas personas sufren mutaciones genéticas que alteran su capacidad para sintetizar albúmina. Se dice que los individuos cuyo plasma está por completo desprovisto de albúmina muestran **analbuminemia**. Si bien en circunstancias normales la albúmina es el principal determinante de la presión osmótica del plasma, las personas que sufren de analbuminemia sólo muestran edema moderado. En diversas enfermedades, en particular las del hígado, la síntesis de albúmina está deprimida. El plasma de pacientes con **enfermedad hepática** a menudo muestra un decremento de la proporción entre albúmina y globulinas (proporción albúmina-globulina disminuida). La síntesis de albúmina disminuye en etapas relativamente tempranas en estados de malnutrición proteínica, como **kwashiorkor**.

LAS CONCENTRACIONES DE CIERTAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS AUMENTAN DURANTE INFLAMACIÓN O DESPUÉS DE DAÑO DE TEJIDO

En el **cuadro 52-3** se resumen las funciones de muchas de las proteínas plasmáticas. La **proteína C reactiva** (CRP, así llamada porque reacciona con el polisacárido C de los neumococos), α_1-antiproteinasa, haptoglobina, α_1-glucoproteína ácida, y fibrinógeno, se clasifican como **"proteínas de fase aguda"**. Se cree que las proteínas de fase aguda desempeñan un papel en la respuesta del organismo a la inflamación. La proteína C reactiva puede estimular la vía del complemento clásica (véase más adelante), mientras que la α_1-antitripsina neutraliza ciertas proteasas liberadas durante el estado inflamatorio agudo.

Las concentraciones de proteínas de fase aguda pueden aumentar desde 50% hasta 1 000 veces (en el caso de la CRP) durante estados inflamatorios crónicos, y en pacientes con cáncer. La **interleucina-1 (IL-1)**, un polipéptido liberado a partir de células fagocíticas mononucleares, es el principal estimulador (aunque no el único) de la síntesis de casi todos los reactivos de fase aguda por hepatocitos. Están involucradas moléculas adicionales, como la IL-6. Dado que su concentración puede aumentar de modo tan notorio, la CRP se usa como un biomarcador de lesión tisular, infección e inflamación.

Las **citocinas** son proteínas pequeñas, como los interferones, las interleucinas (IL) y los factores de necrosis tumoral, que facilitan la comunicación célula-célula entre los componentes del sistema inmunitario. Pueden ser de naturaleza tanto autocrina como paracrina. Las citocinas IL-1 e IL-6 funcionan en el ámbito de la transcripción de gen. Uno de sus blancos primarios es un factor de transcripción llamado **factor nuclear κ-B** (**NFκB**), que también regula la expresión de los genes que codifican para muchas citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión celular. El NFκB, un heterodímero compuesto de un polipéptido de 50 kDa y uno de 65 kDa, normalmente reside en el citosol como un complejo activo con una segunda proteína, inhibidor de NFκB-α, también conocido como IκBα. En el momento de estimulación en respuesta a inflamación, le-

CUADRO 52-3 Algunas funciones de las proteínas plasmáticas

Función	Proteínas plasmáticas
Antiproteasas	Antiquimotripsina
	α_1-Antitripsina (α_1-antiproteinasa)
	α_2-Macroglobulina
	Antitrombina
Coagulación de la sangre	Diversos factores de la coagulación, fibrinógeno
Enzimas	Función en la sangre, por ejemplo, factores de la coagulación, colinesterasa
	Escape desde células o tejidos, p. ej., transaminasas
Hormonas	Eritropoyetina[a]
Defensa inmunitaria	Inmunoglobulinas, proteínas del complemento y β_2-macroglobulina
Participación en respuestas inflamatorias	Proteínas de respuesta de fase aguda (p. ej., proteína C reactiva, α_1-glucoproteína ácida [orosomucoide])
Oncofetal	α_1-Fetoproteína (AFP)
Transporte o unión de proteínas	Albúmina (diversos ligandos, entre ellos bilirrubina, ácidos grasos libres, iones [Ca^{2+}], metales [p.ej., Cu^{2+}, Zn^{2+}], methem, esteroides, otras hormonas y diversos fármacos)
	Globulina de unión a corticosteroide (transcortina) (se une a cortisol)
	Haptoglobina (se une a la hemoglobina extracorpuscular)
	Lipoproteínas (quilomicrones, VLDL, LDL, HDL)
	Hemopexina (se une a hem)
	Proteína de unión a retinol (se une a retinol)
	Globulina de unión a hormona sexual (se une a testosterona, estradiol)
	Globulina de unión a hormona tiroidea (se une a T_4, T_3)
	Transferrina (transporta hierro)
	Transtiretina (antes prealbúmina; se une a T_4 y forma un complejo con la proteína de unión a retinol)

[a] Otras hormonas proteínicas circulan en la sangre, pero por lo general no se designan proteínas plasmáticas. De modo similar, la ferritina también se encuentra en el plasma en cantidades pequeñas, pero tampoco se le caracteriza habitualmente como una proteína plasmática.

sión o radiación, el IκBα es fosforilado, y después ubiquitinado y degradado. Una vez liberado de su pareja inhibidora, el NFκB activo se transloca hacia el núcleo donde estimula la transcripción de sus genes blanco.

LA HAPTOGLOBINA PROTEGE A LOS RIÑONES CONTRA DAÑO POR HEMOGLOBINA EXTRACORPUSCULAR

El hierro en eritrocitos senescentes es reciclado por macrófagos

En circunstancias normales, los eritrocitos tienen un lapso de vida de alrededor de 120 días. Los eritrocitos senescentes o dañados son fagocitados por macrófagos del sistema reticuloendotelial (RES) presente en el bazo y el hígado. Alrededor de 200 mil millones de eritrocitos (en aproximadamente 40 mL de sangre) son catabolizados cada día de esta manera. Dentro del macrófago, el hem derivado de la hemoglobina es desintegrado por la **hem oxigenasa**, que lo convierte en biliverdina (figura 31-13). El monóxido de carbono y el hierro son liberados como subproductos. El hierro liberado a partir del hem es exportado desde la vesícula fagocítica en el macrófago por **NRAMP 1** (proteína de macrófago asociada con resistencia natural 1), un transportador homólogo a DMT1. Después es transportado hacia la circulación por la proteína transmembrana ferroportina (**figura 52-3**). Por ende, la ferroportina desempeña un papel fundamental, no sólo en la absorción de hierro en el intestino, sino también en la liberación de hierro desde macrófagos. La **ceruloplasmina** (véase más adelante), una proteína plasmática que contiene cobre sintetizada por el hígado, es una ferrioxidasa requerida para la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+}. A continuación, el Fe^{3+} es unido a la transferrina en la sangre. El hierro liberado a partir de macrófagos de esta manera (alrededor de 25 mg/día) es reciclado y forma la principal fuente de hierro para el organismo. En comparación, la absorción intestinal de hierro contribuye a sólo 1 a 2 mg de las necesidades diarias de hierro del organismo.

La haptoglobina recolecta hemoglobina que ha escapado al reciclado

En el transcurso del recambio de eritrocitos, alrededor de 10% de la hemoglobina de un eritrocito es liberado hacia la circulación. Esta hemoglobina **extracorpuscular**, libre, es suficientemente pequeña (≈ 65 kDa) para pasar por el glomérulo del riñón hacia los túbulos, donde tiende a formar precipitados perjudiciales. La **haptoglobina** (Hp) es una glucoproteína plasmática que se une a la hemoglobina (Hb) extracorpuscular para formar un complejo no covalente apretado (Hb-Hp). Dado que el complejo Hb-Hp es demasiado grande (≥ 155 kDa) como para pasar por

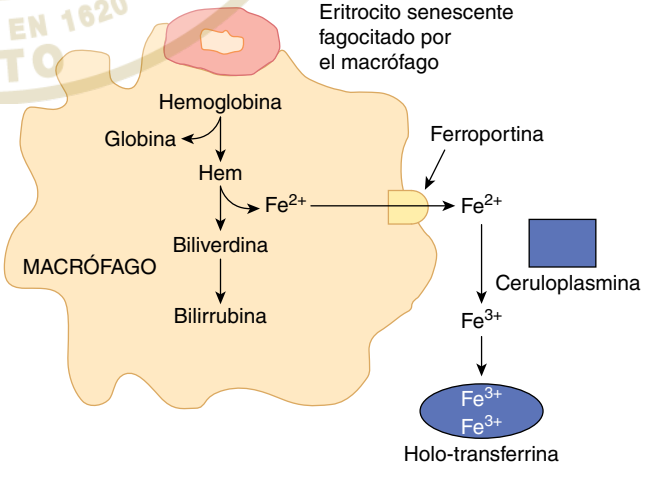


FIGURA 52-3 Reciclado de hierro en macrófagos. Los eritrocitos senescentes son fagocitados por macrófagos. La hemoglobina es degradada y el hierro es liberado del hem por la acción de la enzima hem oxigenasa. A continuación el hierro ferroso es transportado hacia afuera del macrófago por medio de ferroportina (Fp). En el plasma, es oxidado a la forma férrica por la ceruloplasmina antes de unión a transferrina (Tf). El hierro circula en la sangre estrechamente unido a Tf.

el glomérulo, esto protege al riñón de la formación de precipitados perjudiciales, y disminuye la pérdida de hierro asociada con hemoglobina extracorpuscular.

La haptoglobina tiene formas polimórficas

La haptoglobina humana existe en **tres formas polimórficas**, conocidas como Hp 1-1, Hp 2-1, y Hp 2-2. La Hp 1-1 migra durante la electroforesis en un gel de almidón como una banda única, mientras que la Hp 2-1 y Hp 2-2 muestran patrones de banda más complejos. Dos genes, designados Hp^1 y Hp^2, dirigen estos tres fenotipos; Hp 2-1 es el fenotipo heterocigoto.

La concentración de haptoglobina en el plasma humano típicamente basta para unir 40 a 180 mg de hemoglobina por decilitro. Las variaciones más allá de la norma a veces pueden servir como indicadores diagnósticos útiles. Por ejemplo, la haptoglobina es una proteína de fase aguda y su concentración plasmática está alta en diversos estados inflamatorios. Los pacientes que sufren **anemias hemolíticas** muestran concentración baja de haptoglobina. Esto se debe a que, mientras que la vida media de la haptoglobina es de alrededor de cinco días, los hepatocitos eliminan con rapidez el complejo Hb-Hp (vida media de 90 minutos). Así, cuando la haptoglobina está unida a hemoglobina, es eliminada del plasma con una rapidez alrededor de 80 veces mayor que lo normal. En consecuencia, la concentración de haptoglobina disminuye con rapidez en situaciones en las cuales se está liberando constantemente hemoglobina desde eritrocitos, como ocurre en las anemias hemolíticas. La concentración de **proteína relacionada con haptoglobina**, otra proteína plasmática que tiene un alto grado de homología con la haptoglobina, está alta en algunos pacientes con cánceres, aunque no se entiende del todo la importancia de esto.

Algunas otras proteínas plasmáticas se **unen al hem**, pero no a la hemoglobina. La **hemopexina** es una β_1-globulina que se une al hem libre. La **albúmina** se unirá a algo de methem (hem férrico) para formar methemalbúmina, que a continuación transfiere el methem a la hemopexina.

EL HIERRO ES ESTRICTAMENTE CONSERVADO

El **hierro** es un constituyente clave de muchas proteínas del humano, entre ellas hemoglobina, mioglobina, el grupo de enzimas citocromo P450, muchos componentes de la cadena de transporte de electrones, y ribonucleótido reductasa, que cataliza la conversión de ribonucleótidos hacia desoxirribonucleótidos. El hierro corporal, que está distribuido como se muestra en el **cuadro 52-4**, es altamente conservado. Un adulto sano sólo pierde alrededor de 1.0 a 1.5 mg (< 0.05%) de sus 3 a 4 g de hierro corporal cada día. Sin embargo, una mujer premenopáusica adulta puede experimentar deficiencia de hierro debido a pérdida de sangre durante la menstruación.

La absorción de hierro no hem por enterocitos de la parte proximal del duodeno es un proceso altamente regulado (**figura 52-4**). El **hierro de la dieta inorgánico** en el estado férrico (Fe^{3+}) es reducido a su forma ferrosa (Fe^{2+}) por una ferrirreductasa unida a la membrana del borde en cepillo, el **citocromo duodenal b (Dcytb)**. La vitamina C, el ácido gástrico y varios otros agentes reductores presentes en los alimentos también pueden favorecer la reducción de hierro férrico a ferroso. La transferencia de hierro a través de la membrana apical de los enterocitos se logra por medio del **transportador de metal divalente 1** (**DMT1** o **SLC11A2**). El DMT1 es relativamente inespecífico y puede quedar involucrado también en el transporte de otros cationes divalentes, como Mn^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+} y Pb^{2+}. Una vez dentro de los enterocitos, el hierro puede ser almacenado unido a la proteína de almacenamiento de hierro **ferritina**, o ser transferido a través de la membrana basolateral hacia la circulación por la proteína exportadora de hierro, **ferroportina** o **proteína regulada por hierro 1** (**IREG1** o **SLC40A1**). La **hefaestina**, una ferroxidasa que contiene cobre homóloga a la ceruloplasmina, oxida Fe^{2+} a Fe^{3+} antes de la exportación. El hierro es transportado en el plasma en la forma de Fe^{3+} por la proteína de transporte, **transferrina**. Cualquier hierro unido a ferritina excesivo retenido por los enterocitos es desechado cuando los enterocitos se desprenden hacia la luz del intestino.

El hierro en la dieta que se ingiere como hem es captado mediante un mecanismo distinto. Después de la absorción por los enterocitos, el hierro es liberado desde el hem por la acción enzimática de la hem oxigenasa (capítulo 31). Una vez liberado, el hierro es almacenado en asociación con ferritina, o transportado hacia la circulación por la ferroportina.

CUADRO 52-4 Distribución de hierro en un varón adulto de 70 kg[a]

Transferrina	3 a 4 mg
Hemoglobina en eritrocitos	2 500 mg
En mioglobina y diversas enzimas	300 mg
En reservas (ferritina)	1 000 mg
Absorción	1 mg/día
Pérdidas	1 mg/día

[a] En una mujer adulta de peso similar, la cantidad en reservas generalmente sería menor (100 a 400 mg), y las pérdidas serían mayores (1.5 a 2 mg/día).

La ferritina puede unirse a miles de átomos de Fe^{3+}

El cuerpo humano típicamente puede almacenar hasta 1G de hierro, la mayor parte del cual está unido a **ferritina**. La ferritina (MW de 440 kDa) está compuesta de 24 subunidades idénticas, que rodean hasta 3 000 a 4 500 átomos férricos. Las subunidades pueden ser de tipo H (pesado, *heavy*), o L (ligero, *light*). La subunidad H posee actividad de ferroxidasa, que se requiere para la carga de hierro de ferritina. No se conoce con claridad la función de la subunidad L, pero se propone que está implicado en la nucleación de la ferritina y la estabilidad de la misma. En circunstancias normales, hay una pequeña cantidad de ferritina en el plasma humano (50 a 200 μg/dL), proporcional a las reservas totales de hierro en el organismo. De este modo, se considera que la concentración plasmática de ferritina es un **indicador de las reservas corporales de hierro**. Empero, se desconoce si la ferritina en el plasma se deriva de células dañadas o de secreción por células sanas.

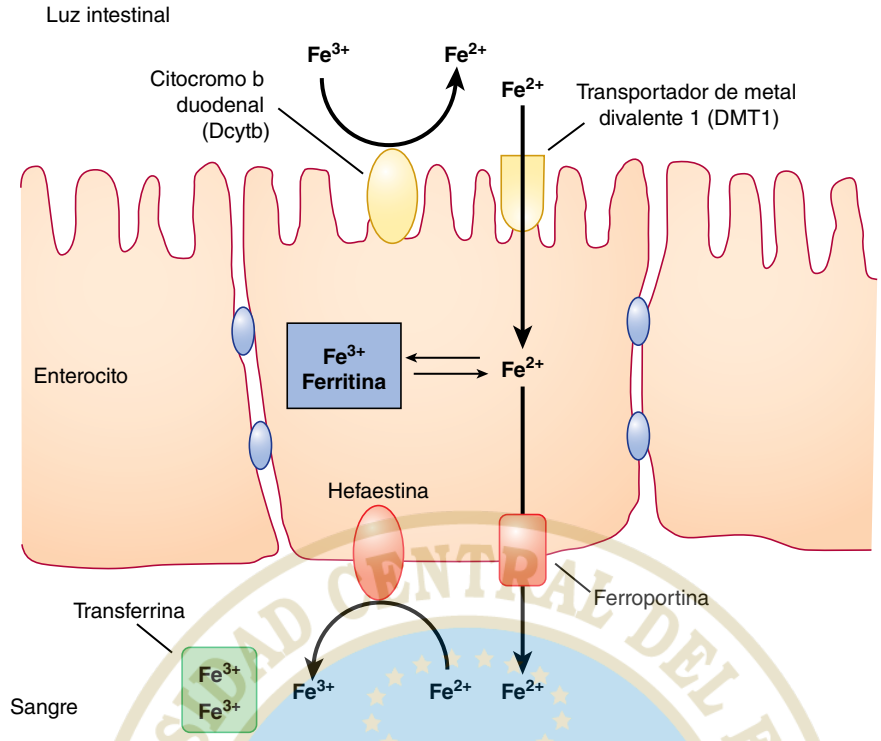


FIGURA 52-4 Transporte de hierro no hem en eritrocitos. El hierro férrico es reducido a la forma ferrosa por una ferrirreductasa luminal, citocromo b duodenal (Dcytb). El hierro ferroso es transportado hacia el enterocito por medio del transportador de metal divalente-1 (DMT-1). Dentro del enterocito, el hierro es almacenado como ferritina o transportado hacia afuera de la célula por la ferroportina (Fp). El hierro ferroso es oxidado a su forma férrica por la hefaestina. El hierro férrico a continuación es unido por transferrina para transporte por la sangre a diversos sitios del cuerpo. (Basado en Andrews NC: Forging a field: the golden age of iron biology. Blood 2008;112;219).

La **hemosiderina**, una forma parcialmente degradada de ferritina que contiene hierro, puede detectarse en los tejidos mediante tinciones histológicas (p. ej., azul prusiano), en condiciones de sobrecarga de hierro **(hemosiderosis)**.

La transferrina transborda hierro a donde se necesita

La toxicidad extrema del hierro libre es en su mayor parte una consecuencia de su capacidad para catalizar la formación de especies reactivas de oxígeno perjudiciales (**figura 52-5**). Los organismos biológicos minimizan la toxicidad potencial de hierro al emplear proteínas de almacenamiento y de transporte especializadas. En humanos, el hierro es transportado por el cuerpo unido estrechamente a la proteína plasmática **transferrina (Tf)**, una glucoproteína sintetizada por el hígado. Esta β_1-globulina tiene una masa molecular de aproximadamente 76 kDa y contiene dos sitios de unión de alta afinidad para Fe^{3+}. La forma de la proteína en la cual ambos sitios están ocupados se llama **holotransferrina (Tf-Fe)**. La transferrina es una glucoproteína que es sintetizada en el hígado. La concentración de Tf en el plasma es de aproximadamente 300 mg/dL, suficiente para transportar un total de alrededor de 300 µg de hierro por decilitro de plasma. Esta cifra representa la **capacidad total de unión a hierro (TIBC)** del plasma. Los sitios de unión en la transferrina en circunstancias normales no están por completo ocupados o **saturados**. Típicamente, alrededor de 30% de los sitios de unión a hierro en la transferrina está ocupado. La saturación puede disminuir a menos de 16% durante deficiencia grave de hierro y puede aumentar a más de 45% en estados de sobrecarga de hierro.

La glucosilación de transferrina está alterada en **trastornos congénitos de la glucosilación** (capítulo 46), así como en individuos con alcoholismo **crónico**. La presencia de **transferrina deficiente en carbohidrato (CDT)**, que puede medirse mediante enfoque isoeléctrico (IEF), se usa como un biomarcador de alcoholismo crónico.

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^{-}$$

FIGURA 52–5 Reacción de Fenton. El hierro libre es extremadamente tóxico porque puede catalizar la formación de radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$) a partir de peróxido de hidrógeno (cap. 53). El radical hidroxilo es una especie transitoria pero muy reactiva y puede oxidar macromoléculas celulares, lo que propicia daño tisular.

El ciclo de la transferrina facilita la captación celular de hierro

Para el suministro de hierro transportado, la célula receptora debe unirse a la transferrina circulante por medio de un **receptor de transferrina 1 (TfR1)** de superficie celular. A continuación, el complejo de receptor-transferrina es internalizado mediante **endocitosis mediada por receptor** (similar a los receptores de LDL descritos en el capítulo 25) y el hierro unido es liberado de la proteína a medida que los endosomas tardíos quedan acidificados. El hierro disociado abandona el endosoma por medio del DMT1 para entrar al citoplasma. A diferencia del componente proteínico de la LDL, la apoTf (Tf sin hierro unido) no es

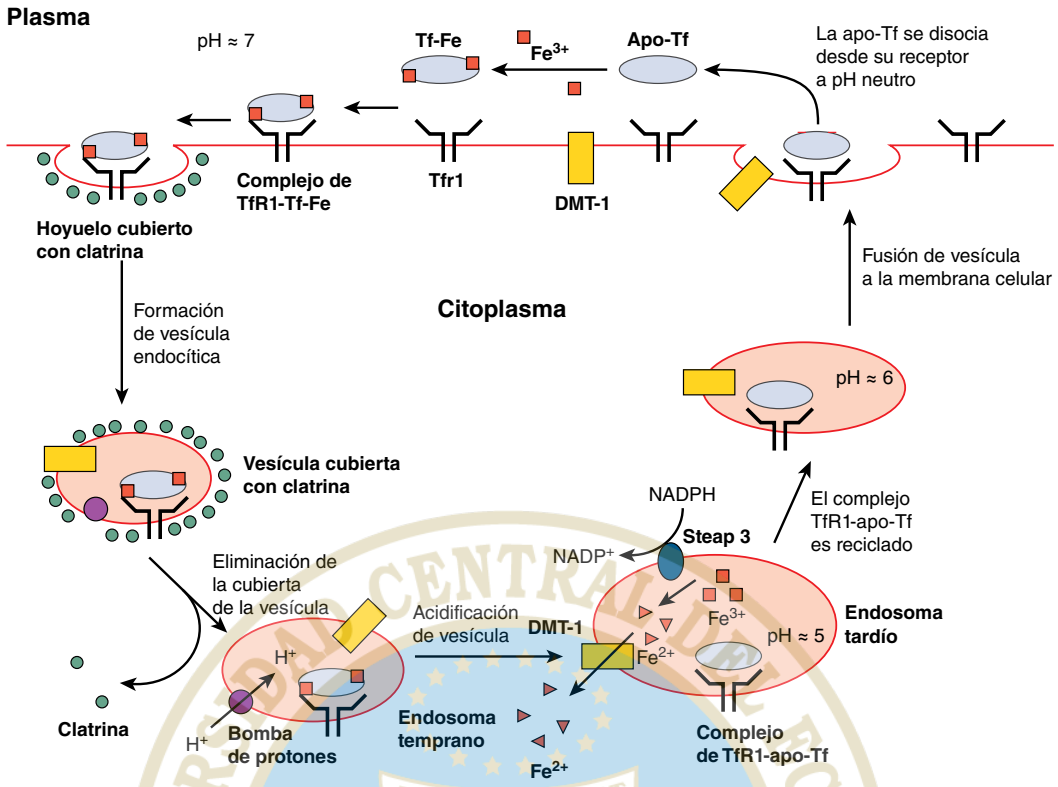


FIGURA 52-6 **El ciclo de la transferrina.** La holotransferrina (Tf-Fe) se une al receptor de transferrina 1 (TfR1) presente en hoyuelos cubiertos con clatrina sobre la superficie del eritrocito. El complejo TfR1-Tf-Fe es objeto de endocitosis y las vesículas endocítica se fusionan para formar endosomas tempranos. Los endosomas tempranos maduran a endosomas tardíos, que tienen un pH interno bajo. Estas condiciones ácidas con pH bajo causan liberación de hierro desde la transferrina. La apotransferrina (apoTf) resultante permanece unida al TfR1. El hierro férrico es convertido en su forma ferrosa por la ferrirreductasa, Steap 3, y a continuación es transportado al citosol por medio de DMT1. El complejo de TfR1-apoTf es reciclado de regreso a la superficie celular. En la superficie celular, la apoTf es liberada del TfR1. A continuación, el TfR1 se une a nueva Tf-Fe; esto completa el ciclo de la transferrina.

degradada dentro del endosoma. En lugar de eso, permanece asociada con su receptor, y vuelve a la membrana plasmática. La apoTf reciclada a continuación se disocia de su receptor, y vuelve a entrar al plasma, donde capta más hierro para suministro a células. Esto se llama el **ciclo de la transferrina** (**figura 52-6**).

El receptor de transferrina 1 puede encontrarse sobre la superficie de casi todas las células. En contraste, el **receptor de transferrina 2 (TfR2)** es expresado principalmente sobre la superficie de hepatocitos y en las células de criptas del intestino delgado. La afinidad del TfR2 por Tf-Fe es mucho más baja que la del TfR1. La afinidad más baja del TfR2 lo optimiza para su papel en la detección de hierro, más que en la internalización del mismo (véase más adelante).

La oxidación por ceruloplasmina es una característica clave del ciclo del hierro

Después de la destrucción de eritrocitos fagocitados, el hierro liberado desde los macrófagos se encuentra en su mayor parte en el estado ferroso, Fe^{2+}. No obstante, para ser recuperado por medio del ciclo de la transferrina, este hierro primero debe ser oxidado al estado férrico, Fe^{3+}. En sangre, la oxidación del hierro ferroso es catalizada por la ferroxidasa multicobre **ceruloplasmina**, una α_2-globulina de 160 kDa sintetizada por el hígado. La ceruloplasmina, que también es expresada en enterocitos y la placenta, es la principal proteína que contiene cobre en el plasma. Sus seis átomos de cobre estrechamente unidos sirven como grupos prostéticos esenciales desde el punto de vista catalítico.

Las deficiencias de ceruloplasmina perturban la homeostasis del hierro

Las personas que carecen de cantidades adecuadas de ceruloplasmina catalíticamente activa en la sangre son incapaces de reciclar de forma apropiada el Fe^{2+}, lo que lleva a la acumulación de hierro en el hígado y otros tejidos. La deficiencia de ceruloplasmina puede surgir por causas genéticas, así como por falta de cobre, un micronutriente esencial, en la dieta. Quienes sufren **hipoceruloplasminemia**, una enfermedad genéticamente hereditaria en la cual la concentración de ceruloplasmina es de alrededor de 50% de lo normal, por lo general no muestran anormalidades clínicas. Sin embargo, las mutaciones genéticas que suprimen la actividad de ferroxidasa de la ceruloplasmina, **aceruloplasminemia**, pueden tener consecuencias fisiológicas graves. Si se deja sin tratamiento, la acumulación progresiva de hierro en las células de los islotes pancreáticos y los ganglios basales a la larga conduce a la aparición de diabetes dependiente de insulina y degeneración neurológica que puede manifestarse como demencia, disartria y distonía.

La concentración de ceruloplasmina aumenta en la enfermedad de Wilson

Las disminuciones graves de la concentración de proteína ceruloplasmina en el suero también sirven como un biomarcador para **enfermedad de Wilson**, una enfermedad genética en la cual una mutación en el gen que codifica para una **ATPasa tipo P de unión a cobre** (proteína ATP7B) bloquea la excreción de cobre excesivo en la bilis. Como consecuencia, se acumula cobre en el hígado, el cerebro, el riñón y los eritrocitos. Paradójicamente, la concentración creciente de cobre dentro de células hepáticas parece interferir con la incorporación de este metal hacia polipéptidos ceruloplasmina recién sintetizados (apoceruloplasmina), lo que da pie a un descenso de la concentración plasmática de ceruloplasmina. Si se dejan sin tratamiento, los pacientes que sufren **toxicosis por cobre** pueden presentar una anemia hemolítica, enfermedad hepática crónica (cirrosis y hepatitis), y síndromes neurológicos debido a acumulación de cobre en los ganglios basales y otros centros. La enfermedad de Wilson puede tratarse al limitar la ingestión de cobre en la dieta, y eliminar el exceso de cobre del organismo mediante la administración regular de **penicilamina**, que produce quelación de cobre y después es excretada en la orina.

LA HOMEOSTASIS DE HIERRO INTRACELULAR ESTÁ ESTRECHAMENTE REGULADA

La síntesis de TfR1 y ferritina está regulada de manera recíproca

Las tasas de síntesis de TfR1 y ferritina están enlazadas de manera recíproca a la concentración intracelular de hierro. Cuando el hierro es bajo, la síntesis de TfR1 aumenta y la de ferritina declina. Sucede lo contrario cuando el hierro es abundante y las necesidades tisulares se han satisfecho. Se ejerce control por medio de la unión de proteínas reguladoras de hierro (IRP) a estructuras bucles horquilla llamadas **elementos de respuesta al hierro (IRE)** ubicados en las regiones no traducidas (UTR) 5′ y 3′ de los mRNA que codifican para ferritina y TfR1, respectivamente (**figura 52-7**). Las IRP se unen a los IRE sólo cuando la concentración intracelular de hierro es baja. La unión en la UTR 3′ del mRNA que codifica para TfR1 lo estabiliza, lo que aumenta así la síntesis de TfR1 y la expresión del mismo sobre la superficie celular. De manera alternativa, la unión de una IRP al IRE situado en la UTR 5′ del mRNA que codifica para ferritina bloquea la traducción. De modo similar, cuando la concentración de hierro es alta, las IRP se disocian. En estas circunstancias, la traducción de mRNA que codifica para ferritina es facilitada y el mRNA que codifica para TfR1 es degradado con rapidez.

La hepcidina es el principal regulador de la homeostasis de hierro sistémica

El péptido de 25 aminoácidos **hepcidina** desempeña un papel fundamental en la homeostasis del hierro. Sintetizada en el hígado como un precursor de 84 aminoácidos (prohepcidina), **la hepcidina se une al exportador de hierro celular, ferroportina,**

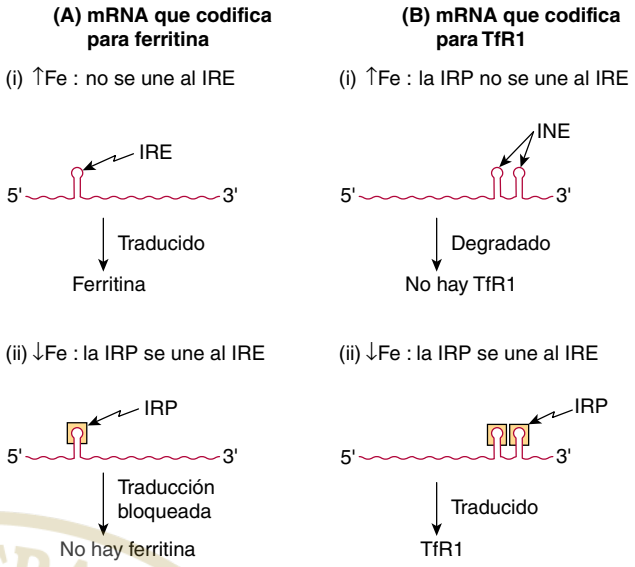


FIGURA 52-7 Representación esquemática de la relación recíproca entre la síntesis de ferritina y el receptor de transferrina (TfR1). El mRNA que codifica para ferritina es representado a la izquierda del diagrama, y el que codifica para TfR1, a la derecha. A concentración alta de hierro, el hierro unido a la IRP evita que la proteína se una a los IRE en uno u otro tipo de mRNA. En estas circunstancias, el mRNA que codifica para ferritina es capaz de ser traducido, y se sintetiza ferritina. Por otro lado, cuando la IRP carece de la capacidad para unirse al IRE sobre el mRNA que codifica para TfR1, ese mRNA es degradado. En contraste, a concentración baja de hierro, la IRP es capaz de unirse a los IRE sobre ambos tipos de mRNA. En el caso del mRNA que codifica para la ferritina, esto evita que sea traducido; por ende, no se sintetiza ferritina. En el caso del mRNA que codifica para TfR1, la unión de la IRP evita que el mRNA sea degradado, es traducido y se sintetiza TfR1. IRP, proteína reguladora de hierro; IRE, elemento de respuesta a hierro.

lo que desencadena su internalización y degradación. El decremento consiguiente de ferroportina da por resultado absorción disminuida de hierro en el intestino (produce un "bloqueo de mucosa") y reciclado deprimido de hierro por macrófagos (**figura 52-8**). Juntos, éstos dan por resultado una reducción de la concentración de hierro circulante (hipoferremia), así como transferencia placentaria de hierro reducida durante el embarazo. Cuando la concentración plasmática de hierro es alta, la síntesis hepática de hepcidina aumenta, lo que reduce así la absorción de hierro y el reciclado de hierro por macrófagos. Sucede lo contrario cuando la concentración plasmática de hierro es baja.

La expresión de hepcidina está influida por el hierro, la eritropoyesis, la inflamación y la hipoxia

Las células hepáticas vigilan la concentración de hierro usando un "complejo detector de hierro" multicomponente compuesto de dos receptores transmembrana cuyos centros constan de homodímeros de **TfR1** y **TfR2**, respectivamente. Estos dos complejos son enlazados por una tercera proteína transmembrana, la **proteína HFE**, que comúnmente está mutada en la hemocromatosis hereditaria (**figura 52-9**). La proteína HFE es una molécula tipo complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I, que es expresada sobre la superficie celular, donde está unida a **β_2-microglobulina** (un componente de moléculas de MHC clase I,

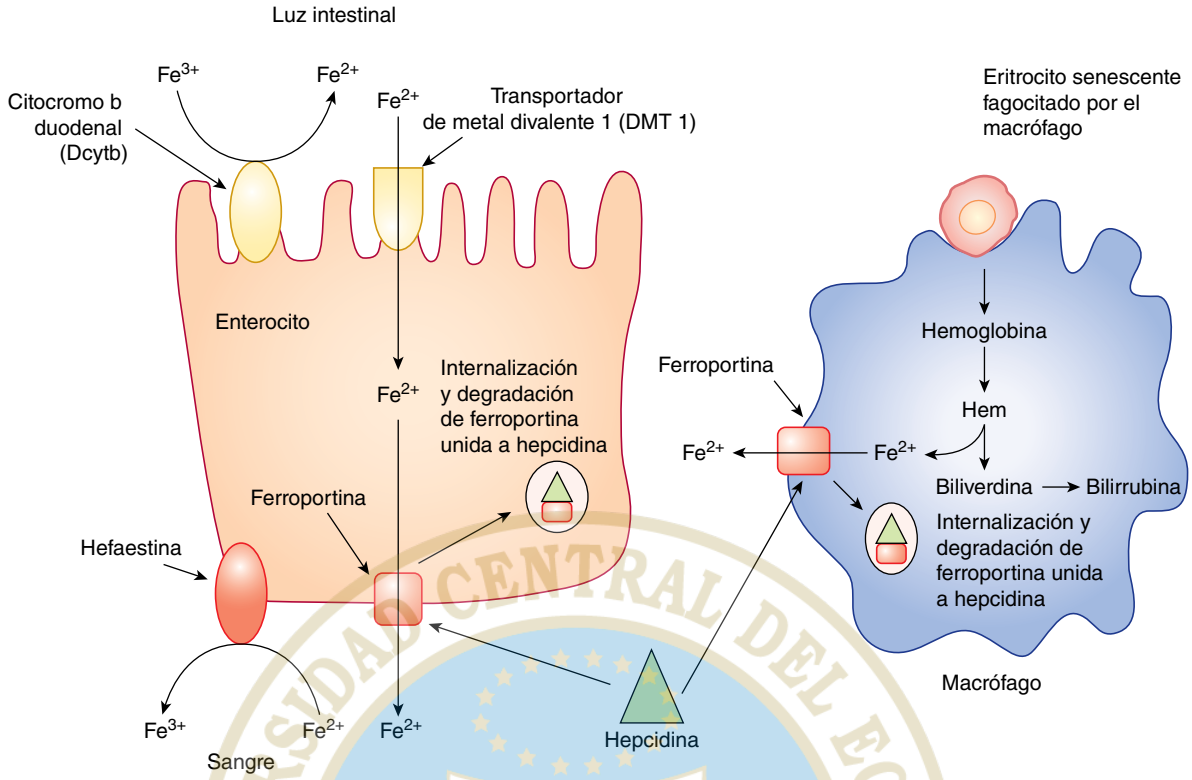


FIGURA 52-8 Función de la hepcidina en la regulación del hierro sistémico. La hepcidina se une a la ferroportina expresada sobre la superficie de enterocitos y macrófagos, además de que desencadena la internalización y degradación de la misma. Esto disminuye la absorción de hierro desde el intestino e inhibe la liberación de hierro a partir de macrófagos, lo que da pie a hipoferremia. (Basado en Andrews NC: Forging a field: the golden age of iron biology. Blood 2008;112(2):219).

que no se muestra en la figura 52-9) y, normalmente, TfR1. El TfR1 también se une a la forma de transferrina unida a hierro (Tf-Fe) y hace eso en un sitio que se superpone con el sitio para HFE. Cuando el hierro es abundante y la concentración de Tf-Fe es alta, la HFE es desplazada desde el TfR1. La proteína HFE desplazada a continuación se une a TfR2, y forma un complejo que puede estabilizarse más por unión de Tf-Fe. La unión de HFE a TfR2 desencadena una cascada de señalización intracelular que activa la expresión de *HAMP*, el gen que codifica para hepcidina.

Las proteínas morfogenéticas óseas influyen sobre la expresión de hepcidina

Si bien las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) actúan mediante mecanismos que son distintos de la proteína HFE, hay considerable comunicación recíproca entre estas vías. La BMP se une a un receptor de superficie celular (BMPR) cuya afinidad de unión es aumentada por unión a un correceptor, la **hemojuvelina** (HJV). La activación del complejo BMPR-HJV desencadena la fosforilación de proteínas señalizadoras intracelulares llamadas **SMAD**, que después da lugar a activación transcripcional de hepcidina (figura 52-9).

Señales eritropoyéticas regulan la concentración de hepcidina

La síntesis de hepcidina está deprimida en personas que sufren talasemia β mayor, que se caracteriza por eritropoyesis ineficaz y sobrecarga de hierro. También se ha mostrado que dos moléculas secretadas por eritroblastos, el **factor de diferenciación de crecimiento 15** (GDF15) y **gastrulación por invaginación 1 (TWSG1)** inhiben la expresión de hepcidina en pacientes con talasemia β.

La síntesis de hepcidina es inducida por citocinas como la **interleucina-6 (IL-6)** que son liberadas como parte de una respuesta inflamatoria. La unión de IL-6 a su receptor de superficie celular estimula la expresión de gen al activar la vía JAK-STAT (cinasa Janus-transductor de señal y activador de transcripción) (figura 52-9). La anemia que se asocia con inflamación crónica **(anemia de inflamación o AI)** probablemente se debe a regulación ascendente, mediada por inflamación, de hepcidina. La AI se manifiesta como una anemia microcítica, hipocrómica, que es resistente a la complementación con hierro. La **hipoxia** suprime la expresión de hepcidina. Dicho efecto está mediado por la eritropoyetina, cuya síntesis está controlada por los factores de transcripción inducibles por hipoxia 1 y 2 (HIF-1 y HIF-2).

LA DEFICIENCIA DE HIERRO Y LA ANEMIA SON COMUNES EN TODO EL MUNDO

La deficiencia de hierro es en extremo común en muchas partes del mundo, especialmente en países en desarrollo. Las principales causas de insuficiencia de hierro son deficiencia en la dieta,

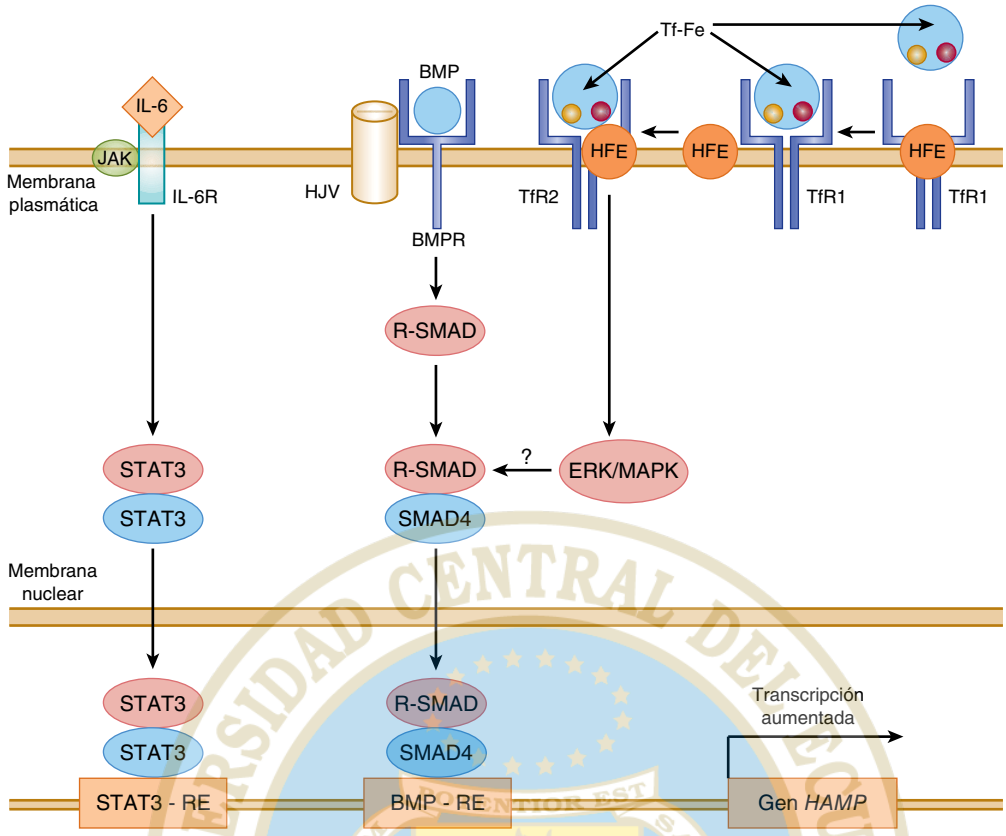


FIGURA 52-9 Regulación de la expresión del gen que codifica para hepcidina. La Tf-Fe (holotransferrina) compite con la HFE por unión a TfR1. Las cifras altas de Tf-Fe desplazan al HFE desde su sitio de unión en el TfR1. El HFE desplazado se une al TfR2 junto con Tf-Fe para señalizar por medio de la vía de ERK/MAP K para inducir la expresión de hepcidina. La BMP se une a su receptor BMPR y HJV (correceptor) para activar R-SMAD. El R-SMAD se dimeriza con SMAD 4 y después se transloca al núcleo, donde se une al BMP-RE, lo que da por resultado activación transcripcional de hepcidina como se muestra. La IL-6, que es un biomarcador de inflamación, se une a su receptor de superficie celular y activa la vía JAK-STAT. La STAT3 se transloca al núcleo donde se une a su elemento de respuesta (STAT-RE) en el gen que codifica para hepcidina, para inducirlo. BMP-RE, elemento de respuesta a BMP; BMP, proteína morfogenética ósea; BMPR, receptor de proteína morfogenética ósea; ERK-MAPK, cinasa regulada por señal extracelular/proteína cinasa activada por mitógeno; *HAMP,* gen que codifica para péptido antimicrobiano hepcidina (hepcidina); HJV, hemojuvelina; IL-6, interleucina 6; IL-6R, receptor de interleucina 6; JAK, cinasa asociada a Janus; SMAD, proteína relacionada con Sma y MAD (Mothers Against Decapentaplegic); STAT, transducción de señal y activador de transcripción; STAT3-RE, elemento de respuesta a STAT 3; TfR1, receptor de transferrina 1; TfR2, receptor de transferrina 2. (Redibujado de Hentz MW, Muckenthaler MU, Gali B, *et al*: Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. Cell 2010;142:24).

malabsorción, sangrado gastrointestinal y pérdida episódica de sangre, como por menstruación. La deficiencia persistente de hierro puede llevar a anemia. El fracaso de la absorción intestinal de hierro para satisfacer las demandas del organismo da por resultado un **balance negativo de hierro**. Esto lleva a disminución progresiva de las reservas de hierro conforme son movilizadas para satisfacer los requerimientos. A esta etapa, todos los análisis de laboratorio resultan normales, excepto por ferritina sérica baja, un biomarcador de las reservas corporales de hierro. Si la concentración sérica de ferritina disminuye por debajo de 15 µg/dL, la concentración de transferrina aumenta, lo que produce un incremento de la **capacidad total de unión a hierro**; empero, la **saturación de transferrina** disminuirá. En el momento en que alcanza 20% o menos, la síntesis de hemoglobina estará alterada, lo que da por resultado **eritropoyesis deficiente en hierro**. Si la deficiencia de hierro no se corrige, la concentración de hemoglobina en la sangre disminuirá gradualmente, y dará por resultado **anemia por deficiencia de hierro**. Los pacientes típicamente presentan un **cuadro hipocrómico, microcítico en la sangre**, que se acompaña de fatiga, palidez y reducción de la capacidad para hacer ejercicio.

Los eritrocitos de personas que sufren anemia por deficiencia de hierro muestran concentración aumentada de receptor de transferrina de superficie-1, y déficit de la incorporación de hierro hacia protoporfirina IX, catalizada por ferroquelatasa. El aumento resultante de las cifras de **proteína receptora de transferrina soluble (sTfR)** liberada hacia el plasma por proteólisis parcial de receptores de transferrina de superficie celular y la acumulación de **protoporfirina en eritrocitos**, sirven como biomarcadores diagnósticos para anemia por deficiencia de hierro. La estimación de la concentración sérica de sTfR es en especial útil para distinguir entre anemia debida a inflamación crónica, que no afecta las cifras de receptores de transferrina de eritrocitos y anemia por deficiencia de hierro. En el **cuadro 52-5** se resumen las cifras de estos biomarcadores y de otros biomarcadores utilizados en clínica, que se observan típicamente conforme los pacientes progresan por cada etapa de la anemia por deficiencia de hierro.

CUADRO 52-5 Cambios en diversos análisis de laboratorio usados para evaluar anemia por deficiencia de hierro

Parámetro	Normal	Balance negativo de hierro	Eritropoyesis con deficiencia de hierro	Anemia por deficiencia de hierro
Ferritina sérica (μg/dL)	50-200	Disminuido < 20	Disminuida < 15	Disminuida < 15
Capacidad total de unión a hierro (TIBC) (μg/dL)	300-360	Un poco aumentado > 360	Aumentada > 380	Aumentada > 400
Hierro sérico (μg/dL)	50-150	Normal	Disminuido < 50	Disminuido < 30
Saturación de transferrina (%)	30-50	Normal	Disminuida < 20	Disminuida < 10
Protoporfirina eritrocítica (μg/dL)	30-50	Normal	Aumentada	Aumentada
Receptor de transferrina soluble (μg/dL)	4-9	Aumentado	Aumentado	Aumentado
Morfología de los eritrocitos	Normal	Normal	Normal	Hipocrómica microcítica

Modificado, con autorización, de Figure 98–2, page 630, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. Fauci AS, *et al* (editors). McGraw-Hill, 2008.

La hemocromatosis hereditaria se caracteriza por sobrecarga de hierro

La presencia de hierro teñible en los tejidos, **hemosiderosis**, es característica de individuos que sufren **hemocromatosis** o sobrecarga de hierro. Las formas hereditarias de hemocromatosis se originan por mutaciones en el gen *HFE* o, con menor frecuencia, en los genes que codifican para hepcidina, TfR2, HJV o ferroportina, que llevan a la hiperabsorción de hierro por los intestinos (**cuadro 52-6**). La **sobrecarga de hierro secundaria** por lo general se asocia con eritropoyesis ineficaz, como se observa en los síndromes de talasemia. Las transfusiones sanguíneas repetidas también pueden dar lugar a sobrecarga de hierro progresiva. En uno u otro caso, la acumulación de hierro en el hígado, el corazón y el páncreas puede llevar a la generación de cifras tóxicas de especies reactivas de oxígeno.

INHIBIDORES SÉRICOS EVITAN LA PROTEÓLISIS INDISCRIMINADA

Las proteasas son participantes esenciales en el remodelado de tejidos, la coagulación de la sangre, la eliminación de células viejas o enfermas, destrucción de agentes patógenos invasores, y otras funciones fisiológicas. No obstante, si no se controlan, las enzimas proteolíticas que son secretadas o que escapan hacia la sangre pueden dañar tejido sano. La protección contra proteólisis indiscriminada comprende una batería de proteínas séricas que inhiben y, así, limitan el alcance de acción de la proteasa.

CUADRO 52-6 Estados o enfermedades con sobrecarga de hierro

- **Hemocromatosis hereditaria**
  - Hemocromatosis relacionada con HFE (tipo 1)
  - Hemocromatosis no relacionada con HFE
    - Hemocromatosis juvenil (tipo 2)
      - Mutación de hepcidina (tipo 2A)
      - Mutación de hemojuvelina (tipo 2B)
      - Mutación del receptor de transferrina 2 (tipo 3)
    - Mutación de ferroportina (tipo 4)
- **Hemocromatosis secundaria**
  - Anemia caracterizada por eritropoyesis ineficaz (p. ej., talasemia mayor)
  - Transfusiones sanguíneas repetidas
  - Terapia con hierro parenteral
  - Sobrecarga de hierro en la dieta (siderosis de los bantúes)
- **Enfermedades diversas asociadas con sobrecarga de hierro**
  - Hepatopatía alcohólica
  - Esteatohepatitis no alcohólica
  - Infección por virus de la hepatitis C

La deficiencia genética de α_1-antiproteinasa (α_1-antitripsina) se asocia con enfisema y un tipo de enfermedad del hígado

La **α_1-antiproteinasa**, una glucoproteína de 394 residuos que constituye > 90% de la fracción α_1 de proteínas plasmáticas, es el principal **inhibidor de serina proteasa (serpina)** o **Pi** en la sangre humana. Antes llamada α_1-antitripsina, la α_1-antiproteinasa inhibe la tripsina, la elastasa y otras serina proteasas al asociarse con ellas y formar un complejo covalente inactivo. Ocurren al menos 75 **formas polimórficas**. El principal genotipo es MM, y su producto fenotípico es PiM. La α_1-antiproteinasa es sintetizada por hepatocitos y macrófagos. Una deficiencia de esta serpina está implicada en ciertos casos (alrededor de 5%) de enfisema, particularmente en sujetos con el **genotipo ZZ** (que sintetizan PiZ) y en heterocigotos PiSZ, ambos de los cuales secretan considerablemente menos proteína que los individuos PiMM.

La oxidación de Met_{358} desactiva la α_1-antiproteinasa

El humo producido por productos de la combustión de tabaco y muchas actividades industriales contiene componentes que reaccionan en los pulmones con α_1-antiproteinasa, y oxidan un residuo de **metionina** clave situado en este dominio de unión a proteasa, Met_{358}. La α_1-antiproteinasa oxidada ya no puede unirse a serina proteasas ni puede neutralizarlas. El daño producido por la actividad proteolítica no controlada de elastasa y otras serina proteasas sobre el tejido pulmonar, puede contribuir a la aparición de enfisema. El tabaquismo puede ser en particular devastador para los pacientes (p. ej., fenotipo PiZZ) que ya tienen concentración baja de α_1-antiproteinasa. Se ha usado administración intravenosa de serpinas (terapia de aumento) como un adjunto en el tratamiento de pacientes con enfisema que muestran deficiencia de α_1-antiproteinasa. La disminución adicional de α_1-antiproteinasa desencadenada por fumar da por resultado destrucción proteolítica aumentada de tejido pulmonar, lo cual acelera la aparición de enfisema. Los individuos con deficiencia de α_1-antiproteinasa también tienen mayor riesgo de

daño pulmonar bajo condiciones que inducen la acumulación de leucocitos polimorfonucleares en el pulmón, como la neumonía.

La deficiencia de α_1-antiproteinasa también está implicada en la **enfermedad hepática por deficiencia de α_1-antiproteinasa**, que afecta a personas que poseen el genotipo ZZ. Se acumula α_1-antiproteinasa en hepatocitos de los individuos afectados y forma agregados poliméricos en las cisternas del retículo endoplasmático. La propensión a formar agregados se ha rastreado a la sustitución de Glu342 de la α_1-antiproteinasa por **lisina** en individuos ZZ. El resultado es **hepatitis**, con **cirrosis** consiguiente.

La α_2-macroglobulina neutraliza muchas proteasas y dirige ciertas citocinas a tejidos

La **α_2-macroglobulina**, un miembro de la **familia de proteínas plasmáticas tiol éster**, comprende 8 a 10% de la proteína plasmática total en humanos. Esta glucoproteína homotetramérica es el miembro más abundante de un grupo de proteínas plasmáticas que incluyen las proteínas del complemento C3 y C4. La α_2-macroglobulina es sintetizada por monocitos, hepatocitos y astrocitos. Media la inhibición y la depuración de una amplia gama de proteasas "ociosas" por un mecanismo análogo al que utiliza la planta carnívora *Dionaea muscipula*. Los componentes clave de la trampa comprenden un "dominio carnada" de 35 residuos ubicado cerca de la parte media de su secuencia polipeptídica, y un tiol éster cíclico interno que enlaza un residuo de cisteína y uno de glutamina (**figura 52-10**). La separación del dominio carnada desencadena un cambio conformacional masivo en la α_2-macroglobulina y hace que la proteasa atacante quede envuelta. El tioéster reactivo reacciona con la proteasa para formar un enlace covalente entre las proteínas. Este cambio conformacional también expone una secuencia en la α_2-macroglobulina que es reconocida por receptores de superficie celular situados en diversos tipos de células, lo cual conduce a la depuración (mediada por receptor) del complejo desde el plasma.

Además de servir como el inhibidor de amplio espectro predominante del plasma, o **panproteinasa**, la α_2-macroglobulina también se une a alrededor de 10% del **cinc** en el plasma, y lo transporta (el resto es transportado por la albúmina), así como a **citocinas** como el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento transformante-β. Como un transportador de citocina, la α_2-macroglobulina parece estar involucrada en el direccionamiento de estos efectores hacia tejidos o células particulares. Una vez captadas por las células, las citocinas se disocian, lo cual las libera para modular su crecimiento y función.

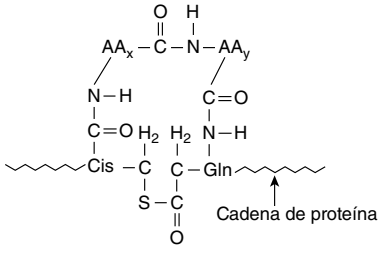


FIGURA 52-10 Un enlace tiol éster cíclico interno, como está presente en la α_2-macroglobulina. AA_x y AA_y son aminoácidos vecinos a cisteína y glutamina.

CUADRO 52-7 Una clasificación de amiloidosis

Tipo	Proteína implicada
Primaria	Principalmente cadenas ligeras de inmunoglobulinas
Secundaria	Amiloide sérico A (SAA)
Familiar	Transtiretina; también rara vez apolipoproteína A-1, cistatina C, fibrinógeno, gelsolina, lisozima
Enfermedad de Alzheimer	Péptido amiloide β (capítulo 57, caso núm. 2)
Relacionada con diálisis	β_2-Microglobulina

Nota: también han quedado implicadas en la amiloidosis proteínas no incluidas en esta lista.

EL DEPÓSITO DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS EN LOS TEJIDOS DA PIE A AMILOIDOSIS

Amiloidosis se refiere a un deterioro de la función tisular que se produce por la acumulación de agregados insolubles de proteínas entre las células. El término es erróneo, porque originalmente se creyó que las fibrillas insolubles eran de naturaleza tipo almidón. Las fibrillas por lo general se componen de fragmentos proteolíticos de proteínas plasmáticas cuya conformación es rica en **hoja β-plegada**. Las fibrillas por lo general también contienen un **componente P**, que se deriva del **componente P amiloide sérico**, una proteína plasmática estrechamente relacionada con la proteína C reactiva.

Anormalidades estructurales o sobreproducción de al menos 20 proteínas diferentes han quedado implicadas en diversos tipos de amiloidosis. La amiloidosis **primaria** (**cuadro 52-7**) típicamente es causada por un trastorno de células plasmáticas monoclonales que lleva a la acumulación de fragmentos generados a partir de las **cadenas ligeras** (véase más adelante) de una inmunoglobulina. La amiloidosis **secundaria** se produce por una acumulación de fragmentos de **amiloide sérico A (SAA)** consiguiente a infecciones crónicas o cáncer. En estas condiciones, cifras altas de citocinas inflamatorias estimulan el hígado para que aumente la síntesis de SAA, lo que conduce a un incremento concomitante de productos de degradación proteolítica derivados del amiloide sérico A. La **amiloidosis familiar** se produce por acumulación de formas mutadas de ciertas proteínas plasmáticas, en particular **transtiretina** (cuadro 52-3). Se han documentado más de 80 formas de esta proteína alteradas por mutaciones. En pacientes en quienes se efectúa diálisis crónica a largo plazo, puede acumularse la proteína plasmática **β_2-microglobulina**, que es retenida en el plasma por las membranas de diálisis.

LAS INMUNOGLOBULINAS PLASMÁTICAS DESEMPEÑAN UNA FUNCIÓN IMPORTANTE EN LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL ORGANISMO

Los tres componentes principales del sistema inmunitario del cuerpo son: **linfocitos B (células B)**, **linfocitos T (células T)** y el **sistema inmunitario innato**. Los linfocitos B se derivan

principalmente de células de la médula ósea, mientras que los linfocitos T se originan a partir del timo. Las **células B** se encargan de la síntesis de anticuerpos humorales circulantes, también conocidos como **inmunoglobulinas**. Las **células T** están involucradas en diversos **procesos inmunitarios mediados por células**, como rechazo de injerto, reacciones de hipersensibilidad y defensa contra células malignas y muchos virus. Las células B y T responden de una manera **adaptativa**; desarrollan una respuesta dirigida para cada invasor encontrado. El **sistema inmunitario innato** defiende contra infección de una manera inespecífica. Contiene diversas células, como fagocitos, neutrófilos, células asesinas naturales y otras (capítulo 54).

Las inmunoglobulinas constan de múltiples cadenas polipeptídicas

Las inmunoglobulinas (Ig) son proteínas oligoméricas cuyas subunidades individuales tradicionalmente se han clasificado como pesadas (H) o ligeras (L) con base en su migración durante electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida. Las inmunoglobulinas del humano pueden agruparse en cinco clases que se abrevian IgA, IgD, IgE, IgG e IgM (**cuadro 52-8**). En el **cuadro 52-9** se resumen las funciones biológicas de cada clase. La más abundante de las cinco, la IgG, consta de dos cadenas ligeras idénticas (23 kDa) y dos cadenas pesadas idénticas (53 a 75 kDa) enlazadas juntas por una red de enlaces disulfuro. Las cadenas L y H son sintetizadas como polipéptidos separados que después son montados dentro de la célula B o la célula plasmática hacia moléculas de inmunoglobulina maduras, todas las cuales son **glucoproteínas**.

La configuración en forma de Y de la unidad central de inmunoglobulina se ilustra por el tetrámero de IgG (L_2H_2) (**figura 52-11**). Algunas inmunoglobulinas, como la IgG inmune sólo existen en la estructura tetramérica básica. Otras, como la IgA y la IgM pueden formar oligómeros superiores compuestos de dos, tres (IgA) o cinco (IgM) copias de la unidad tetramérica central (**figura 52-12**). El tipo de cadena H determina la clase de inmunoglobulina y, así, su función efectora (véase más adelante): α (IgA), δ (IgD), ε (IgE), γ (IgG) y μ (IgM). Las cadenas γ de la IgG están organizadas hacia cuatro dominios conservados: una región variable amino terminal (V_H) y tres **regiones constantes (C_H1, C_H2, C_H3)**. Los cinco tipos de cadenas H se distinguen por diferencias en sus **regiones C_H**. Las cadenas μ y ε tienen, cada una, cuatro dominios C_H en lugar de los tres habituales.

La cadena ligera de IgG puede dividirse en una **región constante** C terminal **(C_L)** y una **región variable** amino terminal **(V_L)**. Hay dos tipos generales de cadenas ligeras, **kappa (κ)** y **lambda (λ)**, que pueden distinguirse con base en diferencias estructurales en sus regiones C_L. Una molécula de inmunoglobulina dada siempre contiene dos cadenas ligeras κ o dos cadenas ligeras λ (nunca una mezcla de κ y λ). En humanos, las cadenas κ son más comunes que las cadenas λ en moléculas de inmunoglobulina.

Las moléculas de IgG son **divalentes**. El extremo de cada Y contiene un sitio de unión a antígeno constituido de dominios V_H y V_L dispuestos juntos para formar dos láminas de aminoácidos antiparalelas. El sitio en el antígeno al cual se une un anticuerpo se denomina un **determinante antigénico** (o **epítopo**). La región entre los dominios C_H1 y C_H2, que puede separarse fácilmente usando pepsina o papaína (figura 52-11), se denomina la **"región bisagra"**. La región bisagra confiere **flexibilidad** y permite que ambos brazos Fab se muevan de manera independiente. Esto facilita la unión a sitios antigénicos que pueden estar separados distancias variables o que están presentes en dos bacterias o virus diferentes. De esta manera, pueden formarse agrupaciones de anticuerpo-antígeno cuyo tamaño hace que sean más fácilmente reconocidas y desechadas por leucocitos fagocíticos. Este fenómeno comúnmente se demuestra en el laboratorio por la formación de **rosetas** de eritrocitos.

CUADRO 52-8 Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

Propiedad	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Porcentaje de inmunoglobulina total en el suero (aproximado)	75	15	9	0.2	0.004
Concentración sérica (mg/dL) (aproximada)	1 000	200	120	3	0.05
Coeficiente de sedimentación	7S	7S or 11S[a]	19S	7S	8S
Peso molecular (× 1 000)	150	170 or 400[a]	900	180	190
Estructura	Monómero	Monómero o dímero	Monómero o pentámero	Monómero	Monómero
Símbolo de cadena H	γ	α	μ	δ	ε
Fijación de complemento	+	—	+	—	—
Paso transplacentario	+	—	—	?	—
Mediación de respuestas alérgicas	—	—	—	—	+
Encontrada en secreciones	—	+	—	—	—
Opsonización	+	—	—[b]	—	—
Receptor de antígeno sobre célula B	—	—	+	?	—
La forma polimérica contiene cadena J	—	+	+	—	—

[a] La forma 11S se encuentra en secreciones (p. ej., saliva, leche y lágrimas) y líquidos de los tractos respiratorio, intestinal y genital.
[b] La IgM opsoniza indirectamente al activar el complemento. Esto produce C3b, que es una opsonina.
Fuente: reproducido, con autorización, de Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology and Immunology*, 7th ed. McGraw-Hill, 2002.

TABLA 52–9 Principales funciones de las inmunoglobulinas

Inmunoglobulina	Principales funciones
IgG	Principal anticuerpo en la respuesta secundaria. Opsoniza bacterias, lo que hace que sean más fáciles de fagocitar. Fija complemento, que incrementa la muerte de bacterias. Neutraliza toxinas bacterianas y virus. Cruza la placenta.
IgA	La IgA secretoria impide la fijación de bacterias y virus a mucosas. No fija complemento.
IgM	Se produce en la respuesta primaria a un antígeno. Fija complemento. No cruza la placenta. Receptor de antígeno sobre la superficie de células B.
IgD	Se encuentra en la superficie de células B, donde actúa como un receptor para antígeno.
IgE	Media hipersensibilidad inmediata al suscitar liberación de mediadores desde las células cebadas y los basófilos en el momento de exposición a antígeno (alérgeno). Defiende contra infecciones por gusanos al causar liberación de enzimas a partir de los eosinófilos. No fija el complemento. Principal defensa del huésped contra infecciones por helmintos.

Fuente: Reproducido, con autorización, de Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology and Immunology,* 7th ed. McGraw-Hill, 2002.

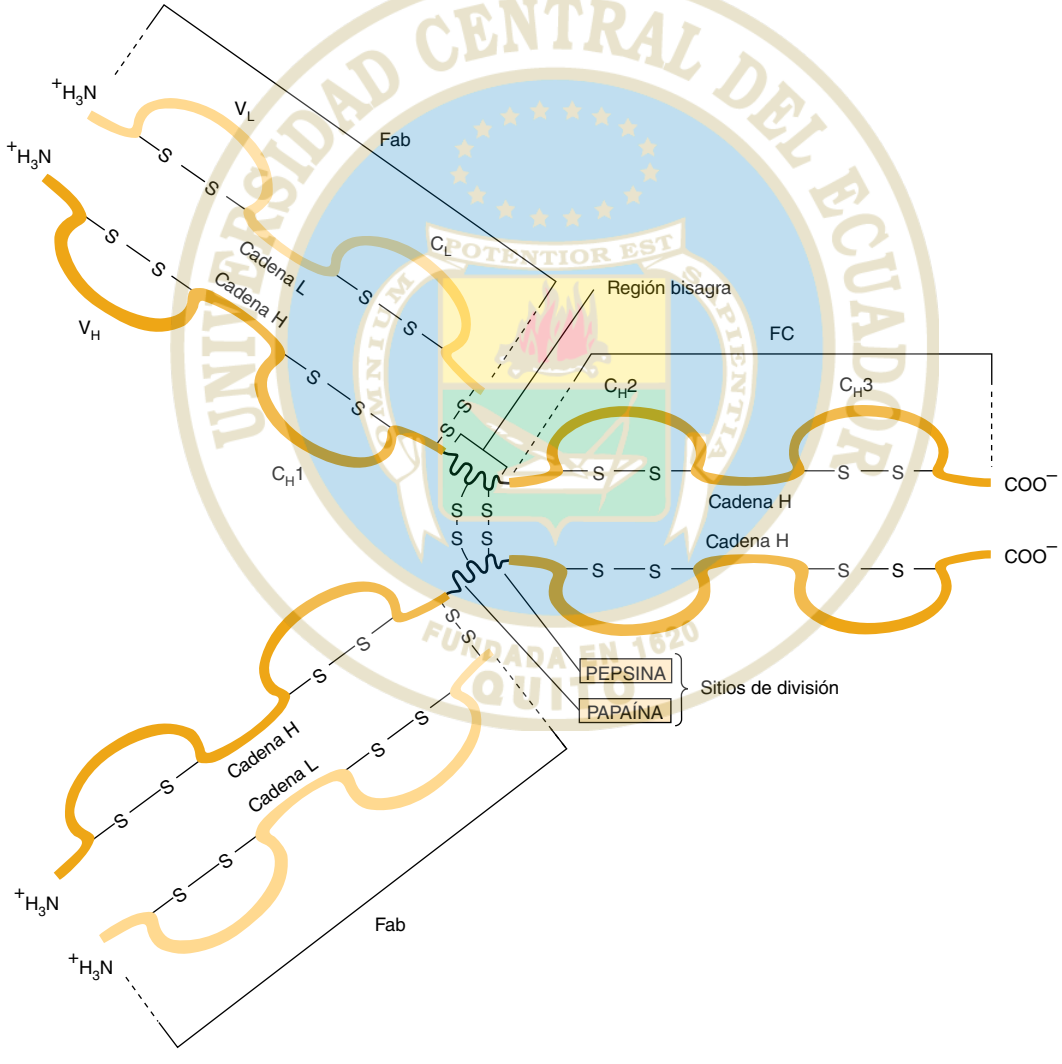


FIGURA 52-11 Estructura de la IgG. La molécula consta de dos cadenas ligeras (L) y dos cadenas pesadas (H). Cada cadena ligera consta de una región variable (V_L) y una región constante (C_L). Cada cadena pesada consta de una región variable (V_H) y una región constante que está dividida en tres dominios (C_H1, C_H2 y C_H3). El dominio C_H2 contiene el sitio de unión a complemento y el dominio C_H3 contiene un sitio que se fija a receptores sobre neutrófilos y macrófagos. El sitio de unión a antígeno está formado por las regiones hipervariables de las cadenas tanto ligeras como pesadas, que están situadas en las regiones variables de estas cadenas (figura 50-10). Las cadenas ligeras y pesadas están unidas por enlaces disulfuro, y las cadenas pesadas también están unidas una a otra por enlaces disulfuro. (Reproducido, con autorización, de Parslow TG, *et al* (editors): *Medical Immunology,* 10th ed. McGraw-Hill, 2001).

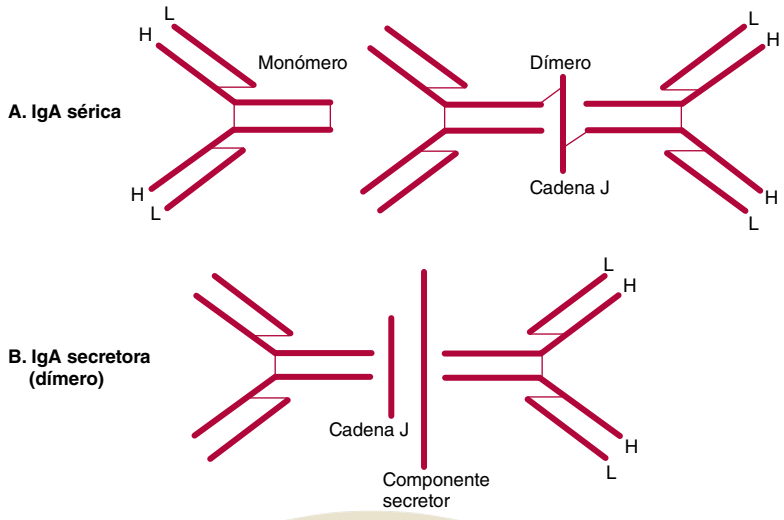


FIGURA 52-12 Representación esquemática de IgA sérica, IgA secretora, e IgM. Tanto la IgA como la IgM tienen una cadena J, pero sólo la IgA secretora tiene un componente secretor. Las cadenas polipeptídicas están representadas por líneas gruesas; los enlaces disulfuro que enlazan diferentes cadenas polipeptídicas están representados por líneas delgadas. (Reproducido, con autorización, de Parslow TG, *et al* (editors): *Medical Immunology,* 10th ed. McGraw-Hill, 2001).

Las regiones variables confieren especificidad de unión

Las **regiones variables** de las cadenas ligera y pesada de inmunoglobulina forman los **sitios de unión a antígeno** que dictan la especificidad asombrosa de los anticuerpos. Como su nombre lo indica, son bastante heterogéneas. De hecho, no hay dos regiones variables de seres humanos diferentes que compartan secuencias de aminoácidos idénticas. Las regiones variables de las cadenas L y H constan de un puñado de islas cortas (5 a 10 residuos) llamadas **regiones hipervariables** intercaladas dentro de un "mar" de polipéptidos por **regiones marco** relativamente invariables (**figura 52-13**). Las regiones hipervariables también se denominan **regiones determinantes de complementariedad (CDR)**. Un **sitio de unión a antígeno** se forma cuando las **regiones hipervariables** de las cadenas H y L se alinean juntas en espacio tridimensional (estructura terciaria) como asas que se proyectan desde la superficie del anticuerpo.

Diversas combinaciones de CDR de cadena H y L pueden dar lugar a múltiples anticuerpos que poseen diferentes especificidades, una característica llamada **diversidad combinatoria**. Los antígenos grandes interactúan con todas las CDR de un anticuerpo, mientras que los ligandos pequeños pueden interactuar con sólo una CDR o con algunas CDR que forman una bolsa o surco en la molécula de anticuerpo. La esencia de las interacciones antígeno-anticuerpo es la **complementariedad mutua** entre las superficies de CDR y epítopos que involucran múltiples interacciones **no covalentes** como formación de enlaces de hidrógeno, puentes de sal, interacciones hidrofóbicas, y fuerzas de Van der Waal (capítulo 2).

Las regiones constantes determinan funciones efectoras específicas para clase

Las **regiones constantes** de las moléculas de inmunoglobulina, en particular la C_H2 y C_H3 (y C_H4 de IgM e IgE) situadas dentro

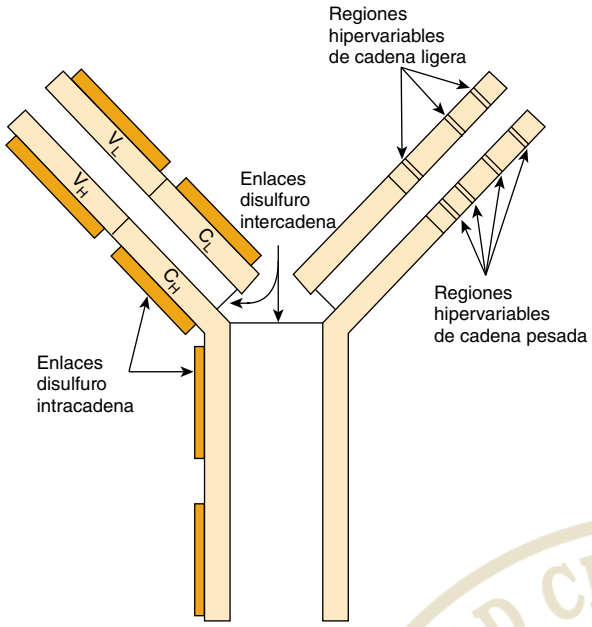


FIGURA 52-13 Modelo esquemático de una molécula de IgG, que muestra las posiciones aproximadas de las regiones hipervariables en las cadenas pesadas y ligeras. El sitio de unión a antígeno está formado por estas regiones hipervariables. Las regiones hipervariables también se llaman regiones determinantes de la complementariedad (CDR). (Modificado y reproducido, con autorización, de Parslow TG, *et al* (editors): *Medical Immunology,* 10th ed. McGraw-Hill, 2001).

del fragmento Fc, se encargan de las **funciones efectoras específicas para clase** de las diferentes moléculas de inmunoglobulina (cuadro 52-9, parte inferior), como fijación de complemento o paso transplacentario.

La diversidad de anticuerpos depende de reordenamientos de gen

El genoma humano contiene menos de 150 genes que codifican para inmunoglobulina; sin embargo, cada persona es capaz de sintetizar quizás un millón de anticuerpos diferentes, cada uno específico para un antígeno único. Es evidente que la expresión de inmunoglobulina no sigue el paradigma de "un ejemplo, una proteína". En lugar de eso, la diversidad de inmunoglobulina es generada por **mecanismos combinatorios** que se basan en la mezcla y el reordenamiento de múltiples maneras de un fondo común finito de información genética (capítulos 35 y 38).

La primera fuente de diversidad de anticuerpos es la división de la secuencia codificadora para cada cadena de inmunoglobulina entre múltiples genes. Cada cadena ligera es el producto de al menos tres genes estructurales separados que codifican para la **región variable (V_L),** la **región de unión (J)** (que no tiene relación con la región J de IgA o IgM) y **región constante (C_L)**, respectivamente. De modo similar, cada cadena pesada es el producto de al menos cuatro genes diferentes que codifican para una región variable (V_H), una **región de diversidad (*D*)**, una **región de unión (J)** y una **región constante (C_H)**. Cada gen está presente en el genoma humano en varias versiones, lo que ofrece el potencial del montaje de múltiples combinaciones.

La diversidad aumenta más mediante la acción de la **citidina desaminasa inducida por activación (AID)**. Al catalizar la conversión de citidina en uracilo, la AID aumenta de manera masiva la frecuencia de mutación de genes *V* que codifican para inmunoglobulina. Estas mutaciones son de naturaleza **somática**, es decir, singular para una célula diferenciada más que para una célula de la línea germinal. En consecuencia, cada activación de AID genera nuevas subpoblaciones de células B que albergan mutaciones singulares de sus genes *V,* lo que hace que cada una sintetice inmunoglobulinas de especificidad de antígeno que difiere. En algunos estados patológicos, la acción mutagénica de AID puede llevar a la generación de **autoanticuerpos** que se dirigen a componentes endógenos del organismo, un fenómeno llamado **autoinmunidad**.

Un tercer mecanismo para generar anticuerpos que se dirigen a antígenos nuevos es la **diversidad de unión**. Esto se refiere a la adición o deleción de números al azar de nucleótidos que tiene lugar cuando ciertos segmentos de gen son unidos entre sí. Como sucede con la AID, las mutaciones generadas por diversidad de unión son de naturaleza somática.

El cambio de clase (isotipo) ocurre durante respuestas inmunitarias

En casi todas las respuestas inmunitarias humorales, se generan anticuerpos de diferentes clases que poseen especificidades de antígeno idénticas. Cada clase aparece en un orden cronológico específico en respuesta al inmunógeno (antígeno inmunizante). Por ejemplo, los anticuerpos de la clase IgM normalmente preceden a moléculas de la clase IgG. La transición desde la síntesis de una clase a otra es designada **cambio de clase** o **de isotipo**. El cambio comprende la combinación de una cadena ligera de inmunoglobulina dada con diferentes cadenas pesadas. Mientras que una cadena ligera recién sintetizada inicialmente será apareada con una cadena μ para generar una molécula de IgM específica, con el tiempo la misma cadena ligera específica para antígeno será apareada con una cadena γ. Empero, esta cadena γ poseerá una región V_H idéntica a la de la cadena μ, lo que generará así una IgG cuya especificidad de antígeno es idéntica a la de la molécula de IgM original. La misma cadena ligera también puede combinarse con una cadena pesada α, que de nuevo contiene la región V_H idéntica, para formar una molécula de IgA con especificidad de antígeno idéntica. Se dice que moléculas de inmunoglobulina de diferentes clases que poseen dominios variables y especificidad de antígeno idénticos, comparten un **idiotipo**. (Los idiotipos son los determinantes antigénicos formados por los aminoácidos específicos en las regiones hipervariables).

Los anticuerpos monoclonales son una importante herramienta de investigación

Los anticuerpos han surgido como una herramienta importante en la investigación, el diagnóstico y el tratamiento biomédicos. Originalmente, la producción de anticuerpos contra un antígeno seleccionado requería que el antígeno se inyectara en un animal huésped, como un conejo o una cabra, y que se obtuviera suero que contenía inmunoglobulinas plasmáticas que incluían (se esperaba) anticuerpos contra el antígeno de interés. Cuando se inyecta un antígeno en un animal, los anticuerpos resultantes son

producidos por una mezcla de células B que sintetizan anticuerpos dirigidos contra diferentes sitios (epítopos o determinantes) sobre el antígeno. De este modo, los anticuerpos producidos en huéspedes animales son heterogéneos o de naturaleza **policlonal**. Más aún, a menos que queden sujetos a una costosa purificación de afinidad, las inmunoglobulinas séricas también contienen anticuerpos contra muchos miles de antígenos a los cuales el animal huésped ha quedado expuesto durante su lapso de vida.

Es posible generar en el laboratorio anticuerpos **monoclonales** homogéneos que se dirigen a un epítopo único y que están libres de otras inmunoglobulinas contaminantes. Típicamente, se obtienen células B del bazo de un ratón (o de otro animal idóneo) en el cual previamente se inyectó un antígeno o una mezcla de antígenos (p. ej., células extrañas). Las células B se mezclan con **células de mieloma** murinas y se exponen a polietilenglicol, que causa fusión celular. El producto de esta fusión es una línea celular permanente llamada un **hibridoma** capaz de proporcionar un aporte continuo de anticuerpos monoclonales. En la **figura 52-14** se resumen los principios involucrados en la generación de células de hibridoma. Al colocar en placas mezclas de células altamente diluidas sobre un medio selectivo que contiene hipoxantina-aminopterina-timidina (HAT), pueden aislarse líneas de hibridoma **clonales**, homogéneas, que se originan a partir de una célula única. Al identificar líneas que secretan un anticuerpo monoclonal específico para el antígeno de elección, es posible obtener una batería de anticuerpos monoclonales específicos para componentes individuales de la mezcla inmunogénica o epítopos diferentes en un antígeno único. Las células de hibridoma se pueden congelar y almacenar, y después descongelar cuando se requiere más anticuerpo; esto asegura su aporte a largo plazo.

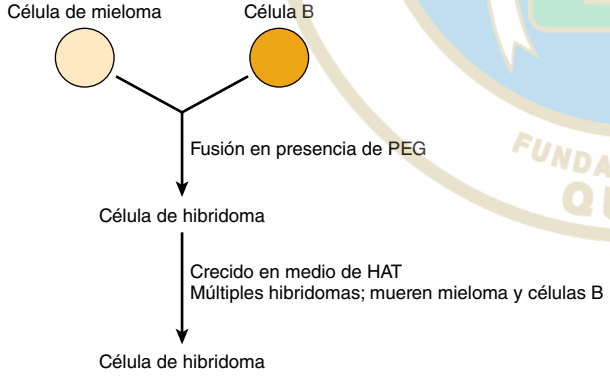


FIGURA 52-14 Esquema de la producción de una célula de hibridoma. Las células de mieloma están inmortalizadas, no producen anticuerpos y son $HGPRT^-$ (lo que hace inactiva la vía natural de síntesis de purina [capítulo 33]). Las células B no están inmortalizadas, cada una produce un anticuerpo específico y son $HGPRT^+$. El polietilenglicol (PEG) estimula la fusión celular. Las células de hibridoma resultantes están inmortalizadas (por medio de las células de mieloma parentales), producen anticuerpos y son $HGPRT^+$ (estas dos últimas propiedades ganadas a partir de las células B parentales). Cualesquier células B restantes morirán porque no están inmortalizadas. En presencia de HAT, las células de mieloma también morirán porque la aminopterina en la HAT suprime la síntesis de purina por medio de la vía *de novo* al inhibir la reutilización de tetrahidrofolato (capítulo 33). No obstante, las células de hibridoma sobrevivirán, crecerán (porque son $HGPRT^+$), y (si son clonadas) producirán anticuerpos monoclonales. (HAT, hipoxantina, aminopterina y timidina; HGPRT, hipoxantina guanina fosforribosil transferasa).

Para **uso terapéutico en humanos**, anticuerpos monoclonales producidos mediante líneas de células murinas se pueden **humanizar**. Esto se logra al fijar los CDR (los sitios que unen antígenos) en sitios apropiados en una molécula de inmunoglobulina humana. Esto produce un anticuerpo que es muy similar a un anticuerpo humano, cuya **inmunogenicidad** reducida disminuye de manera notoria las probabilidades de una reacción anafiláctica.

EL SISTEMA DE COMPLEMENTO CONFIERE PROTECCIÓN ADICIONAL CONTRA INFECCIÓN

Las inmunoglobulinas forman el centro del **sistema inmunitario adaptativo** del organismo, un nombre que refleja su capacidad para generar anticuerpos con nuevas especificidades de unión a antígeno en el momento en que se encuentra un agente infeccioso nuevo. En contraste, el número, la función y la especificidad de los componentes que comprenden el **sistema inmunitario innato** son fijos y permanecen constantes durante toda la vida. El extremo transportado por el plasma del sistema inmunitario innato se llama el **sistema de complemento**, un nombre derivado de la observación de que puede ser activado por complejos de anticuerpo-antígeno y, por ende, actúa como consecuencia de las inmunoglobulinas del sistema inmunitario adaptativo y en apoyo de las mismas.

El sistema de complemento muestra características que recuerdan la cascada de coagulación de la sangre. Ambos constan de grupos de zimógenos (proproteínas) circulantes que permanecen latentes desde el punto de vista catalítico hasta que son activados por división proteolítica. Estas proteínas, llamadas **factores de complemento**, son sintetizadas por diversos tipos de células, entre ellos hepatocitos, macrófagos, monocitos y células endoteliales intestinales. Como sucede con los factores de la coagulación, casi todos los factores de complemento son proproteasas (capítulo 9) que, en el momento de la activación, se dirigen a otros componentes del sistema, lo que genera así una serie o **cascada** de eventos de activación proteolítica que amplifican la producción de los productos terminales protectores del sistema.

La **vía clásica** para la activación del sistema de complemento es desencadenada cuando un complejo de anticuerpo-antígeno se une al factor **C1** y estimula su actividad de proteasa. A continuación, C1 divide el factor de complemento C2 para formar dos proteínas más pequeñas, C2a y C2b, y divide el factor de complemento C4 para formar C4a y C4b (**figura 52-15**). Dos de los fragmentos proteolíticos, C2a y C4b a continuación se asocian para formar una proteasa, la C3 convertasa, que divide el factor de complemento C3 hacia C3a y C3b. C3a ahora se une al heterodímero C2a:C4b para formar un complejo heterotrimérico, la C5 convertasa, que divide el factor de complemento C5 en C5a y C5b. La proteína C5b a continuación se combina con los factores de complemento C6, C7, C8 y C9 para formar el **complejo de ataque de membrana** (MAC). El MAC mata bacterias invasoras al unirse a su membrana plasmática y abrir un poro en la misma. Después de lisis, los restos de la bacteria son destruidos por macrófagos fagocíticos. Entretanto, las proteínas C3a y C5a sirven como quimioatrayentes que reclutan leucocitos al sitio de infección y estimulan una respuesta inflamatoria.

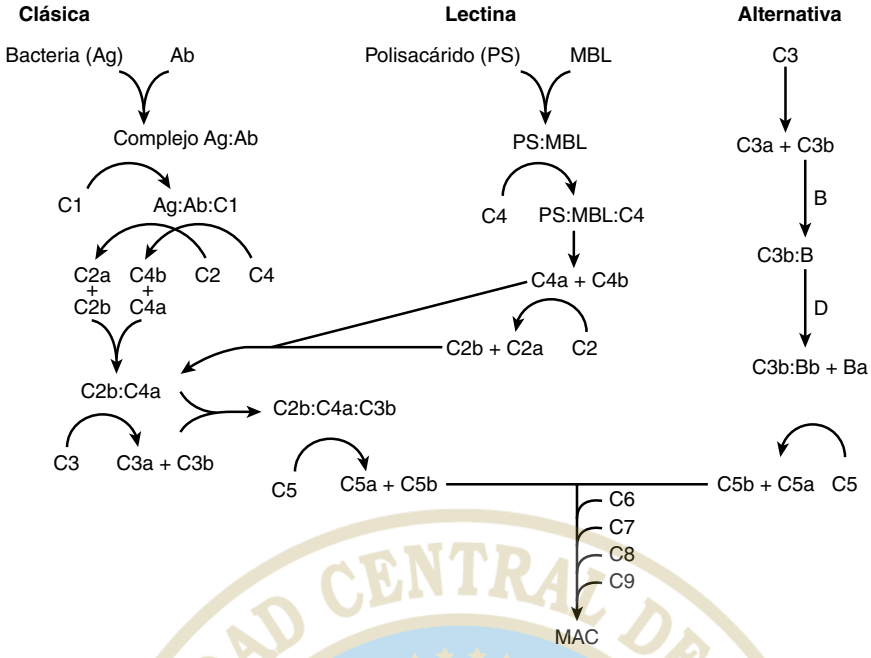


FIGURA 52-15 La cascada de complemento. La activación del sistema de complemento puede ocurrir por medio de tres mecanismos, denominados las vías clásica, de la lectina y alternativa. Se muestran los componentes principales involucrados en cada vía, los productos formados por división proteolítica de las proproteínas inactivas, y los principales complejos formados. Se usan dos puntos (:) para indicar asociación en un complejo.

El direccionamiento del MAC hacia bacterias invasoras es facilitado por la presencia de enlaces tioéster en C3 y C4. Al igual que el enlace tioéster en el inhibidor de proteasa plasmática α_2-macroglobulina, este enlace altamente reactivo queda expuesto como resultado del cambio conformacional que acompaña a la activación. En el caso de C3 y C4, el tioéster reacciona con los grupos hidroxilo de los polisacáridos de superficie de la bacteria, lo cual los ancla (y a los complejos C5 convertasa de los cuales forman parte) de manera covalente a su microorganismo patógeno blanco. En consecuencia, los componentes del MAC se forman y se montan juntos en estrecha proximidad a la membrana bacteriana.

La activación también puede ser desencadenada por medio de la **vía de la lectina**, en la cual los complejos que se forman cuando un factor de complemento conocido como **lectina de unión a manosa** (MBL), también conocido como **proteína de unión a manano** (MBP), se une a polisacáridos bacterianos para generar un complejo que recluta C4 y lo activa (figura 52-15). El término **lectina** se refiere a cualquier proteína que se une a polisacáridos. Casi todas las lectinas son altamente selectivas. La MBL es específica para las porciones carbohidrato que contienen manosa **(mananos)** de glucoproteínas y **lipopolisacáridos** presentes sobre la superficie de bacterias grampositivas, algunos virus y varios hongos. En el momento de unión al complejo de polisacárido-MBL, C4 pasa por autoproteólisis y forma C4a y C4b. Además, divide C2 hacia C2a y C2b. La cascada de activación a continuación procede como se describió para la vía clásica.

La MBL circula como complejos multivalentes grandes, de 400 a 700 kda, que constan de cuatro o más copias de una unidad central homotrimérica constituida de tres copias de un polipéptido de ≈ 30 kda. Cada polipéptido contiene dos dominios principales, un dominio tipo colágeno amino terminal y un dominio de unión a carbohidrato carboxilo terminal. El centro del homotrímero se forma cuando tres dominios tipo colágeno se entrelazan para generar una cola extendida que lleva a una cabeza globular que consta de los tres dominios de unión a carbohidrato. Los homotrímeros se asocian por medio de sus regiones cola amino terminal hacia un "tallo" enlazado a disulfuro a partir del cual las cabezas de unión a carbohidrato individuales se extienden en una disposición ramificada que semeja la de las inmunoglobulinas (**figura 52-16**).

El sistema de complemento también puede ser activado por la **vía alternativa**, que comprende la activación de C3 por hidrólisis química, un proceso a veces denominado "en ralentí" (*"ticking over"*). En la vía alternativa, C3b se une al factor de complemento B, y forma un complejo C3b:B que a continuación es dividido por el factor D. El complejo C3b:Bb resultante posee actividad de C5 convertasa.

LAS DISFUNCIONES DEL SISTEMA INMUNITARIO CONTRIBUYEN A MUCHOS ESTADOS PATOLÓGICOS

Las disfunciones de los sistemas inmunitarios innato y adaptativo pueden tener serias consecuencias fisiológicas. Los déficit en la producción de inmunoglobulinas o factores de complemento pueden dejar al individuo afectado en extremo susceptible a infecciones bacterianas, micóticas o virales, y a la diseminación de las mismas; se dice que esas personas tienen **alteración inmunitaria**.

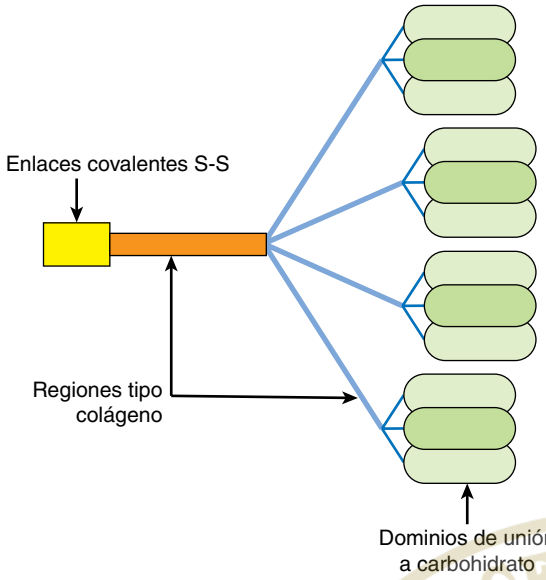


FIGURA 52-16 Representación esquemática de la lectina de unión a manosa. Se muestra un diagrama esquemático de una lectina de unión a manosa (MBL) que consta de cuatro grupos de homotrímeros de MBL. Los dominios de unión a carbohidrato están coloreados. Los dominios de unión tipo colágeno entrelazados para cada trímero se muestran en azul. La región tallo, donde las porciones amino terminal de los homotrímeros de dominios tipo colágeno se asocian entre sí, está coloreada de anaranjado y amarillo; el amarillo marca la región donde están situados los enlaces covalentes S—S que estabilizan el tetrámero de homotrímeros.

Muchos factores pueden contribuir a la depresión de la eficacia del sistema inmunitario, entre ellos se incluyen anormalidades genéticas (p. ej., **agammaglobulinemia**, en la cual la producción de IgG está notoriamente afectada), exposición a toxinas, infecciones virales, malnutrición, transformación neoplásica o tratamiento con fármacos inmunosupresores.

La sobreproducción y activación precoz de los sistemas inmunitario y del complemento también puede ser perjudicial. El fracaso del sistema inmunitario para diferenciar entre células del huésped y un invasor extraño puede desencadenar una **respuesta autoinmunitaria** en la cual el sistema inmunitario del organismo ataca sus propios tejidos y órganos. El daño resultante puede ser acumulativo, como sucede en la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple, o agudo, como la destrucción completa de las células de los islotes pancreáticos que ocurre en la diabetes tipo 1. En la parte no latina de América, la incidencia de trastornos autoinmunitarios es de 3 por cada 100 personas.

En el cuadro 52-1 se listan varios de los trastornos autoinmunitarios más comunes.

RESUMEN

- El plasma contiene muchas proteínas con diversas funciones. Casi todas se sintetizan en el hígado y casi todas están glucosiladas.
- La albúmina explica alrededor de 60%, por masa, del contenido de proteína del plasma; por tanto, es el principal determinante de la presión osmótica intravascular. La albúmina también se une a ácidos grasos, bilirrubina, iones metálicos y ciertos fármacos, y los transporta.
- La haptoglobina se une a la hemoglobina extracorpuscular y evita su pérdida hacia el riñón y la orina, lo cual preserva el hierro para reutilización además de que evita la formación de precipitados perjudiciales en los túbulos.
- La ferritina se une a hierro férrico y lo almacena dentro de células.
- La transferrina transporta hierro a los sitios donde se requiere.
- La ceruloplasmina, la principal proteína que contiene cobre en el plasma, es una ferroxidasa que desempeña una función clave en el reciclado del hierro que se libera cuando eritrocitos senescentes son destruidos.
- La hepcidina regula la homeostasis del hierro al bloquear la internalización de la proteína de exportación de hierro celular, ferrocidina.
- La expresión de hepcidina es estimulada cuando la unión de complejos de transferrina-hierro a receptores de transferrina tipo 1 desplaza la proteína HFE, que a continuación se une a receptores de transferrina tipo 2 y los activa.
- La hemocromatosis hereditaria es una enfermedad genética que comprende absorción excesiva de hierro.
- La α_1-antitripsina es el principal inhibidor de serina proteasa del plasma. La deficiencia genética de esta proteína puede llevar a enfisema y enfermedad del hígado.
- La α_2-macroglobulina es una proteína plasmática importante que neutraliza muchas proteasas y dirige ciertas citocinas a órganos específicos.
- El organismo humano puede sintetizar inmunoglobulinas específicas para hasta un millón de diferentes blancos, llamados antígenos.
- La estructura central de las inmunoglobulinas es un tetrámero que consta de dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas dispuestas en una configuración de "Y".
- La síntesis de diversos anticuerpos a partir de un grupo limitado de genes se hace posible mediante combinación, reordenamiento y mutación somática de genes que codifican para inmunoglobulina.
- La capacidad para sintetizar nuevos anticuerpos para la defensa contra antígenos nuevos representa la característica que define al sistema inmunitario adaptativo.
- Las líneas de células monoclonales proporcionan anticuerpos monoespecíficos para uso de laboratorio y clínico.
- El sistema de complemento por lo general es activado por complejos que se forman entre microbios infectantes y anticuerpos protectores, o entre polisacáridos ricos en manosa sobre la superficie del agente patógeno y proteína de unión a manosa.
- El sistema de complemento es activado por una serie de eventos de división proteolítica que transforman zimógenos latentes en proteasas activas.
- Los trastornos autoinmunitarios se producen cuando el sistema inmunitario ataca los tejidos propios del organismo.

REFERENCIAS

Andrew NC: Forging a field: the golden age of iron biology. Blood 2008;112:219.

Burtis CA, Ashwood EA, Bruns DE (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed. Elsevier Saunders, 2006. (Chapters 20, 26, and 31 give extensive coverage of plasma

proteins, complement proteins, immunoglobulins, C-reactive protein, hemoglobin, iron, and bilirubin).

Carroll MV, Sim RB: Complement in health and disease. Adv Drug Disc Rev 2011;63:965.

Craig WY, Ledue TB, Ritchie RF: *Plasma Proteins: Clinical Utility and Interpretation.* Foundation for Blood Research, 2008.

Fauci AS, Branwald E, Kasper DL, *et al*: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. McGraw-Hill, 2008 (Chapters 58, 98, and 308 contain coverage of anemia and polycythemia, iron deficiency and other hypoproliferative anemias, and an introduction to the immune system).

Ganz T: Iron homeostasis: fitting the puzzle pieces together. Cell Metab 2008;7:288.

Hellman NE, Gitlin JD: Ceruloplasmin metabolism and function. Annu Rev Nutr 2002;22:439.

Hentz MW, Muckenthaler MU, Gali B, *et al*: Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. Cell 2010;142:24.

Lab Tests Online: http://www.labtestsonline.org/ (A comprehensive web site provided by the American Association of Clinical Chemists that provides information on the measurement and significance of the various plasma proteins discussed in this Chapter, and also on most other lab tests).

Levinson W: *Review of Medical Microbiology and Immunology*, 11th ed. Appleton & Lange, 2010. (Good description of the basics of Immunology).

Murphy KM, Travers P, Walport M: *Janeway's Immunobiology*, 7th ed. Garland Science Publishing, 2007.

Noris M, Remuzzi G: Overview of complement activation and regulation. Sem Nephrol 2013;33:479.

Schaller H, Gerber S, Kaempfer U, *et al*: *Human Blood Plasma Proteins: Structure and Function.* Wiley, 2008.

Zaheen A, Martin A: Activation-induced cytidine deaminase and aberrant germinal center selection in the development of humoral autoimmunities. Am J Pathol 2011;178:462.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 53

Eritrocitos

Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender el concepto de células madre y su importancia.
- Explicar por qué los eritrocitos dependen de la glucosa para obtener energía.
- Describir las funciones de la eritropoyetina, la trombopoyetina y otras citocinas en la producción de eritrocitos y plaquetas.
- Reconocer los sistemas enzimáticos que protegen el hierro hem de oxidación y reducen la metahemoglobina.
- Identificar los principales componentes del citoesqueleto del eritrocito.
- Resumir las causas de los trastornos importantes que afectan los eritrocitos.
- Describir la principal función de la proteína eritrocitaria banda 3.
- Conocer las bases bioquímicas de las sustancias del grupo sanguíneo ABO.
- Listar los principales componentes contenidos en los gránulos densos y los gránulos α en plaquetas.
- Describir las bases moleculares de la púrpura trombocitopénica inmunitaria y de la enfermedad de Von Willebrand.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La evolución de una gama diversa de células sanguíneas libremente circulantes fue crucial para el desarrollo de la vida animal. El empaque de hemoglobina y anhidrasa carbónica dentro de células especializadas llamadas **eritrocitos** amplificó en gran manera la capacidad de la sangre circulante para transportar oxígeno a los tejidos periféricos y dióxido de carbono desde los mismos. La **anemia**, una deficiencia de la concentración de hemoglobina circulante (< 120 a 130 g/L) compromete la salud al reducir la capacidad de la sangre para proporcionar a los tejidos cifras de oxígeno suficientes. La anemia puede surgir por diversas causas que incluyen anormalidades genéticas (p. ej., rasgo de células falciformes, anemia perniciosa), sangrado excesivo, insuficiencias de hierro de la dieta o de vitamina B_{12}, o la lisis de eritrocitos por agentes patógenos invasores (p. ej., paludismo). Las **plaquetas** ayudan a restañar el flujo de sangre hacia afuera desde tejidos dañados. Los déficit del número de plaquetas o de la función de las mismas aumentan la vulnerabilidad de un paciente a hemorragia al disminuir la rapidez de formación de coágulos protectores y la integridad estructural de los mismos. Como sucede para la anemia, un recuento plaquetario bajo (conocido como **trombocitopenia**) puede desencadenarse por diversos factores que incluyen infección bacteriana, antibióticos que contienen sulfa y ciertos otros medicamentos, o reacciones autoinmunitarias, como la púrpura trombocitopénica idiopática. Otros síndromes fisiopatológicos, como la **enfermedad de Von Willebrand** y la **trombastenia de Glanzmann**, se originan por mutaciones genéticas que alteran la adherencia de plaquetas o la agregación de las mismas en lugar de su abundancia.

LOS ERITROCITOS SE DERIVAN DE CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS

Tanto los eritrocitos como las plaquetas se recambian a una tasa relativamente alta, por ende, constantemente se están produciendo reemplazos a partir de **células madre** precursoras. Las células madre poseen una capacidad singular tanto para producir células hijas no alteradas **(autorrenovación)** como para generar un rango diverso de tipos de células especializadas **(potencia)**; así, en términos generales, puede considerarse que las células madre existen en un estado indiferenciado. Las células madre pueden ser **totipotentes** (capaces de producir todas las células en un organismo), **pluripotentes** (capaces de diferenciarse hacia células de cualquiera de las tres capas germinales), **multipotentes** (producir sólo células de una familia estrechamente relacionada) o **unipotentes** (producir sólo un tipo de célula). Las células madre también se clasifican como **embrionarias** o **adultas**. Dado que las células madre adultas tienen capacidad más limitada para diferenciarse, se están dirigiendo esfuerzos intensivos a vencer esta restricción.

La diferenciación de células madre hematopoyéticas está regulada por un grupo de glucoproteínas secretadas llamadas **citocinas**. El **factor de células madre** y varios **factores estimulantes de colonias** colaboran con las interleucinas 1, 3 y 6 para estimular la proliferación de células madre hematopoyéticas en la médula ósea y su compromiso para diferenciarse hacia uno de varios tipos de células mieloides (**figura 53-1**). La unión de **eritropoyetina** o **trombopoyetina** dirige células progenitoras mieloides a diferenciarse finalmente hacia eritrocitos o plaquetas, respectivamente.

LOS ERITROCITOS ESTÁN ALTAMENTE ESPECIALIZADOS

Los eritrocitos maduros están desprovistos de orgánulos internos

La estructura y composición de los eritrocitos refleja su función altamente especializada: suministrar la cantidad máxima de oxígeno posible a los tejidos y ayudar a la eliminación de dióxido de carbono, un producto de desecho de la respiración celular y urea. El interior de un eritrocito contiene una concentración masiva de hemoglobina, alrededor de un tercio por peso (30 a 34 g/dL para un adulto). Esta extraordinaria capacidad de la hemoglobina se ha alcanzado, en parte, por la adopción de una estructura celular extraordinariamente simplificada. Los eritrocitos maduros están desprovistos de los orgánulos intracelulares que se encuentran en otras células eucariontes (p. ej., núcleo, lisosoma, aparato de Golgi, mitocondrias). Como una consecuencia, los eritrocitos **enucleados** son incapaces de reproducirse.

Los eritrocitos poseen una red citoesquelética extensa que se encarga de mantener su configuración bicóncava (**figura 53-2**). Su forma poco común aumenta de dos maneras el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre eritrocitos y tejidos. En primer lugar, su configuración tipo disco posee una proporción entre área de superficie y volumen mucho más alta que geometrías más esféricas. En segundo lugar, permite que los eritrocitos se plieguen sobre sí mismos y pasen apretadamente por capilares estrechos cuyo diámetro es más pequeño que el del eritrocito mismo. Al minimizar la distancia por cruzar, estos factores promueven el intercambio de gases eficiente entre paredes capilares y los eritrocitos que se están moviendo con rapidez (hasta 2 mm/segundo).

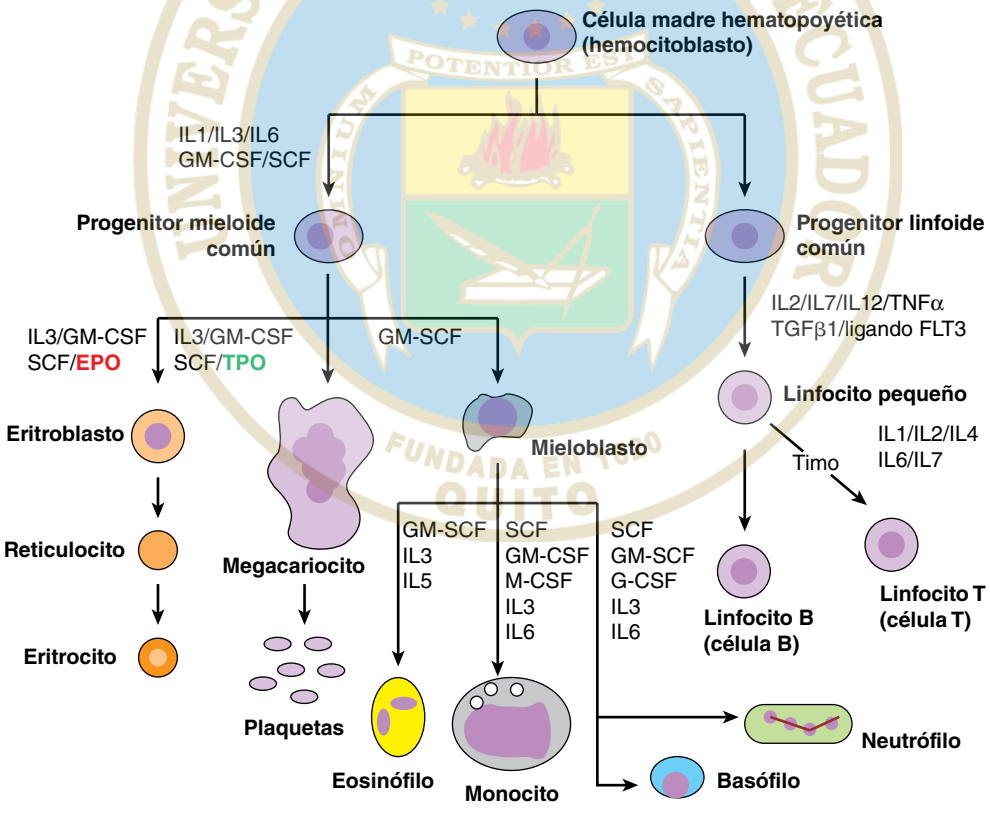


FIGURA 53-1 **Hematopoyesis.** Se muestra un esquema simplificado y muy abreviado que indica las vías mediante las cuales las células madre hematopoyéticas se diferencian para producir muchos de los más prominentes (desde el punto de vista cuantitativo) eritrocitos y leucocitos. Sólo se muestran intermediarios del desarrollo seleccionados. Los nombres de cada tipo de célula están indicados en **negritas**; los núcleos de las células se muestran en **púrpura**; cada flecha resume una transición de múltiples etapas. Las hormonas y citocinas que estimulan cada transición se listan junto a las flechas. Los símbolos usados incluyen IL, interleucina; SCF, factor de célula madre; G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos; M-CSF, factor estimulante de colonias de macrófagos; GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos; ligando FLT3, ligando tirosina cinasa 3 tipo FMS; TNFα, factor de necrosis tumoral α; TGFβ1, factor de crecimiento transformante β1; **EPO,** eritropoyetina; **TPO,** trombopoyetina.



FIGURA 53-2 Los eritrocitos tienen forma de disco bicóncavo. Se muestran dibujos de **A)** un eritrocito, **B)** un corte a través de un eritrocito que ilustra su forma bicóncava, y **C)** un eritrocito plegado para pasar a través de un capilar estrecho.

Los eritrocitos generan ATP exclusivamente por medio de glucólisis

Los eritrocitos carecen de mitocondrias y, por ende, de las enzimas del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), la cadena de transporte de electrones, la vía de la β-oxidación o la ATP sintasa. Esto los hace incapaces de utilizar los ácidos grasos o cuerpos cetónicos como combustible metabólico. Por consiguiente, los eritrocitos dependen por completo de la glucólisis para generar ATP. La glucosa entra a los eritrocitos mediante **difusión facilitada** (capítulo 40), un proceso mediado por el **transportador de glucosa (GLUT1)**, también conocido como glucosa permeasa (**cuadro 53-1**).

La vía glucolítica en los eritrocitos también posee una rama, o derivación, única cuyo propósito es isomerizar 1,3-difosfoglicerato (1,3,-DPG) a **2,3-difosfoglicerato** (2,3-DPG). El 2,3-DPG se une a la hemoglobina y la estabiliza en el estado T (capítulo 6). La conversión de 1,3-DPG en 2,3-DPG es catalizada por la 2,3-difosfoglicerato mutasa, una enzima bifuncional que también cataliza la hidrólisis de 2,3-DPG al intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato. Una segunda enzima, la múltiple inositol polifosfato fosfatasa, cataliza la hidrólisis de 2,3-DPG al intermediario glucolítico 2-difosfoglicerato. Las actividades de estas enzimas son sensibles al pH, lo cual asegura que las concentraciones de 2,3-DPG aumenten y disminuyan en los momentos apropiados durante el ciclo del transporte de oxígeno.

En el **cuadro 53-2** se resumen diversos aspectos del metabolismo de los eritrocitos, varios de los cuales se comentan en otros capítulos.

CUADRO 53-1 Algunas propiedades del transportador de glucosa de la membrana del eritrocito (GLUT1)

- Explica ~ 2% de la proteína de la membrana del eritrocito
- Muestra especificidad para glucosa y D-hexosas relacionadas (las L-hexosas no son transportadas)
- El transportador funciona a ~ 75% de su $V_{máx}$ a la concentración fisiológica de glucosa en sangre, es saturable y puede ser inhibido por ciertos análogos de la glucosa
- Es un miembro de una familia de transportadores de glucosa homólogos que se encuentran en tejidos de mamífero
- No depende de la insulina, a diferencia del transportador correspondiente en los tejidos muscular y adiposo
- Se ha determinado su secuencia de 492 aminoácidos
- Transporta glucosa cuando está insertado en liposomas artificiales
- Se estima que contiene 12 segmentos helicoidales transmembrana
- Funciona al generar un poro con compuerta en la membrana para permitir el paso de glucosa; el poro es dependiente desde el punto de vista conformacional de la presencia de glucosa y puede oscilar rápidamente (~ 900 veces/segundo)

La anhidrasa carbónica facilita el transporte de CO_2

Al igual que la solubilidad del oxígeno en solución acuosa, la del dióxido de carbono es baja, demasiado baja como para dar cabida a más de un bajo porcentaje del CO_2 producido por tejidos metabólicamente activos. Sin embargo, la solubilidad de la forma hidratada de CO_2, ácido carbónico (H_2CO_3) y su producto de disociación protónico, bicarbonato (HCO_3^-), son relativamente altas. La presencia en los eritrocitos de cifras altas de la enzima **anhidrasa carbónica** (figura 6-11) les permite tanto concentrar CO_2

CUADRO 53-2 Aspectos importantes del metabolismo del eritrocito

- El eritrocito depende mucho de glucosa como su fuente de energía, para lo cual su membrana contiene transportadores de glucosa de alta afinidad
- La glucólisis, que produce lactato, es el modo de producción de ATP
- Dado que los eritrocitos carecen de mitocondrias, no hay producción de ATP por fosforilación oxidativa
- El eritrocito tiene diversos transportadores que mantienen el equilibrio iónico y de agua
- La producción de 2,3-difosfoglicerato por reacciones estrechamente asociadas con glucólisis es importante en la regulación de la capacidad de la Hb para transportar oxígeno
- La vía de la pentosa fosfato del eritrocito metaboliza alrededor de 5 a 10% del flujo total de glucosa y produce NADPH. La anemia hemolítica debida a una deficiencia de la actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es común
- El glutatión reducido (GSH) es importante en el metabolismo del eritrocito, en parte para contrarrestar la acción de peróxidos potencialmente tóxicos. El eritrocito puede sintetizar GSH y el NADPH requeridos para devolver el glutatión oxidado (G-S-S-G) al estado reducido GSH
- El hierro de la Hb debe mantenerse en el estado ferroso. El hierro férrico es reducido al estado ferroso mediante la acción de un sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH que comprende citocromo b_5 reductasa y citocromo b_5
- Mientras que en el eritrocito no ocurre biosíntesis de glucógeno, ácidos grasos, proteína ni ácidos nucleicos, algunos lípidos (p. ej., colesterol) en la membrana del eritrocito pueden intercambiarse con lípidos plasmáticos correspondientes
- El eritrocito contiene ciertas enzimas del metabolismo de nucleótido (p. ej., adenosina desaminasa, pirimidina nucleotidasa y adenilil cinasa). Las deficiencias de estas enzimas están involucradas en algunos casos de anemia hemolítica
- Cuando los eritrocitos llegan al final de su lapso de vida, la globina es degradada a aminoácidos (que son reutilizados por el organismo), el hierro es liberado desde el hem y reutilizado, y el componente tetrapirrol del hem es convertido en bilirrubina, que es excretada principalmente hacia el intestino mediante la bilis

de desecho al catalizar su conversión rápida en ácido carbónico, como revertir este proceso para facilitar su expulsión en los pulmones. Si bien los eritrocitos transportan algo de CO_2 en la forma de carbamatos unidos a hemoglobina (capítulo 6), alrededor de 80% es transportado internamente como bicarbonato disuelto.

LOS ERITROCITOS DEBEN SER REEMPLAZADOS CONTINUAMENTE

Cada segundo entran a la circulación alrededor de 2 millones de eritrocitos

El **lapso de vida de 120 días** de un eritrocito normal requiere que cada día se reemplace cerca de 1% de los aproximadamente 30 billones de eritrocitos en un individuo típico; esto es igual a una tasa de producción de ~ 2 millones de nuevos eritrocitos por segundo. Los eritrocitos recién formados retienen porciones de los ribosomas, el retículo endoplasmático, las mitocondrias, etc., que estuvieron presentes en sus precursores nucleados. Durante las ≈ 24 horas que se requieren para completar la transición a eritrocitos maduros, estos eritrocitos nacientes, llamados **reticulocitos**, retienen la capacidad para sintetizar polipéptidos bajo la dirección de moléculas de mRNA vestigiales.

En casos raros, mutaciones genéticas que llevan a un deterioro de la función del ribosoma, llamadas **ribomiopatías**, pueden dar por resultado hipoplasia eritrocitaria. La **anemia de Diamond-Blackfan** se origina por mutaciones en el gen que codifica para la proteína procesadora ribosomal RPS19. El **síndrome 5q**, que representa un cuadro clínico similar, se origina por mutaciones que llevan a una insuficiencia de la proteína ribosomal RPS 14.

La eritropoyetina regula la producción de eritrocitos

Las etapas iniciales de la **eritropoyesis**, la producción de eritrocitos, comprenden factor de células madre, factores estimulantes de colonias, e interleucinas 1, 3 y 6. El compromiso de células progenitoras mieloides a diferenciación hacia eritrocitos depende en gran parte de la **eritropoyetina (EPO)**, una glucoproteína de 166 aminoácidos (masa molecular de alrededor de 34 kDa). La EPO, que es sintetizada principalmente por los riñones, es liberada hacia el torrente sanguíneo en respuesta a hipoxia. En el momento en que llega a la médula ósea, interactúa con progenitores de eritrocitos por medio de un receptor transmembrana específico. El receptor de EPO consta de dos subunidades diferentes organizadas hacia varios dominios. La activación del receptor estimula las actividades de proteína-tirosina cinasas involucradas en la transducción de señal torrente abajo.

La eritropoyetina se administra con fines terapéuticos para tratar anemias que surgen por insuficiencia renal crónica o trastornos de células madre hematopoyéticas **(mielodisplasia)**, así como por los efectos colaterales de tratamientos químicos y radiológicos para cáncer. La tecnología de DNA recombinante ha hecho posible producir cantidades considerables de eritropoyetina a partir de células humanas en cultivo. Como se analiza en el capítulo 49, se están haciendo intentos por aumentar la relación dosis-eficacia de la EPO recombinante al manipular la composición de sus cadenas de polisacárido para prolongar su vida media en la circulación.

LA OXIDACIÓN DEL HIERRO HEM COMPROMETE EL TRANSPORTE DE OXÍGENO

La citocromo b_5 reductasa reduce la metahemoglobina

La hemoglobina que contiene uno o más hierros hem en el estado férrico (Fe^{3+}) se llama **metahemoglobina**. Los grupos hem que contienen hierro ferroso no se unen al oxígeno. Más aún, dado que las subunidades del tetrámero de hemoglobina interactúan de una manera cooperadora (capítulo 6), la oxidación de un hierro hem único puede tener repercusiones adversas sobre el suministro de oxígeno por las tres subunidades restantes.

Los átomos de hierro ferroso, Fe^{2+}, en la hemoglobina son susceptibles a oxidación por especies reactivas de oxígeno (ROS). De este modo, la capacidad para rescatar metahemoglobina al reducir el hierro ferroso, es de gran importancia fisiológica. En los eritrocitos, la hemoglobina es regenerada a partir de la metahemoglobina por el sistema de NADH-citocromo b_5 metahemoglobina reductasa. El primer componente del sistema, la flavoproteína llamada **citocromo b_5** reductasa (también conocida como metahemoglobina reductasa) transfiere electrones del **NADH** al segundo componente, **citocromo b_5**, al usar electrones proporcionados por el NADH:

$$\text{Cit } b_{5ox} + \text{NADH} \rightarrow \text{Cit } b_{5red} + \text{NAD}^+$$

El citocromo b_5 reducido a continuación transfiere los electrones a la metahemoglobina, y reduce el Fe^{3+} de regreso al estado Fe^{2+}:

$$\text{Hb} - \text{Fe}^{3+} + \text{Cit } b_{5red} \rightarrow \text{Hb} - \text{Fe}^{2+} + \text{Cit } b_{5ox}$$

La fuente final de los electrones usados para reducir la metahemoglobina es la glucólisis, en la cual el NAD^+ es reducido a NADH por la acción de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. La eficiencia de este sistema es tal que en circunstancias normales sólo hay cantidades traza de metahemoglobina en los eritrocitos.

La metahemoglobinemia es hereditaria o adquirida

La **metahemoglobinemia**, la acumulación anormal de metahemoglobina, puede surgir por anormalidades genéticas (metahemoglobinemia hereditaria), o por la ingestión de ciertos fármacos y sustancias químicas (metahemoglobinemia adquirida), como sulfonamidas o anilina (**cuadro 53-3**). Dado que la metahemoglobina no se une al oxígeno, los pacientes afectados a menudo muestran coloración azulada de la piel y de las mucosas (cianosis). La forma hereditaria más comúnmente se produce por mutaciones que dan lugar a una deficiencia de la cantidad o la actividad de la **citocromo b_5** reductasa, aunque también se han encontrado mutaciones que afectan las propiedades del citocromo b_5. En raros casos, la metahemoglobinemia puede producirse por mutaciones que hacen al átomo de hierro

CUADRO 53-3 Resumen de las causas de algunos trastornos importantes que afectan los eritrocitos

Trastorno	Causa única o importante
Anemia por deficiencia de hierro	Ingestión insuficiente de hierro o pérdida excesiva del mismo
Metahemoglobinemia	Ingestión excesiva de oxidantes (diversas sustancias químicas y fármacos)
	Deficiencia genética en el sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH (OMIM 250800)
	Herencia de HbM (OMIM 141900)
Anemia de células falciformes (OMIM 603903)	Secuencia del codón 6 de la cadena β cambiada desde GAG en el gen normal hasta GTG en el gen de células falciformes, lo cual da por resultado sustitución de ácido glutámico por valina
α-Talasemias (OMIM 141800)	Las mutaciones en los genes que codifican para α-globina, principalmente grandes deleciones de entrecruzamiento desigual y menos comúnmente mutaciones sin sentido o por cambio de cuadro
β-Talasemias (OMIM 141900)	Una amplia variedad de mutaciones en el gen que codifica para β-globina, incluso deleciones, mutaciones sin sentido o por cambio de cuadro, y otras que afectan cada aspecto de su estructura (p. ej., sitios de empalme, mutantes de promotor)
Anemias megaloblásticas	Deficiencia de vitamina B_{12}. Absorción disminuida de vitamina B_{12}, a menudo debido a una deficiencia del factor intrínseco, normalmente secretado por las células parietales gástricas Deficiencia de ácido fólico. Ingestión disminuida, absorción defectuosa o demanda aumentada (p. ej., durante el embarazo) para folato
Esferocitosis hereditaria[a] (OMIM 182900)	Deficiencias de la cantidad o en la estructura de la α- o β-espectrina, anquirina, banda 3 o banda 4.1.
Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)[a] (OMIM 305900)	Diversas mutaciones en el gen (ligado a X) que codifica para G6PD, en su mayor parte mutaciones puntuales únicas
Deficiencia de piruvato cinasa (PKA)[a] (OMIM 266200)	Diversas mutaciones en el gen que codifica para la isozima R (eritrocitos) de la PK
Hemoglobinuria paroxística nocturna[a] (OMIM 311770)	Mutaciones en el gen que codifica para PIG-A, lo cual afecta la síntesis de proteínas ancladas a GPI

[a]OMIM numbers apply only to disorders with a genetic basis.

de la hemoglobina más susceptible a oxidación. En conjunto denominadas hemoglobina M (HbM), estas formas anormales pueden surgir por mutaciones que afectan los residuos de histidina ubicados en posición proximal o distal al hierro hem así, por ejemplo, en la HbM_{Iwate}, la His87 en la subunidad α es reemplazada por Tir; en la $HbM_{Hyde\ Park}$, la His92 en la subunidad β es reemplazada por Tir; en la HbM_{Boston}, la His58 en las subunidades α de la hemoglobina es reemplazada por Tir; mientras que en la $HbM_{Saskatoon}$, la His92 en la subunidad β es reemplazada por Tir. Una excepción a este patrón es la $HbM_{Milwaukee\text{-}1}$, en la cual la Val67 de la subunidad β es reemplazada por Glu. Todos los portadores conocidos de HbM son heterocigotos.

La superóxido dismutasa, la catalasa y el glutatión protegen a las células sanguíneas de estrés y daño oxidativos

El radical anión superóxido, O_2^-, es generado en los eritrocitos por la autooxidación de hemoglobina a metahemoglobina. Esta potente **especie reactiva de oxígeno (ROS)** puede reaccionar con una amplia gama de biomoléculas que incluyen proteínas, lípidos y nucleótidos, y dañarlas (capítulo 58). Alrededor de 3% de la hemoglobina de la sangre humana pasa por autooxidación cada día. Además, la oxidación de la proteína de almacenamiento de hierro ferritina por el superóxido puede dar lugar a la liberación de Fe^{2+} libre y la generación subsiguiente, catalizada por hierro, de $OH^{\cdot}$ (figura 58-2). De este modo, el superóxido puede proporcionar el desencadenante para el daño tisular que ocurre en personas que sufren sobrecarga de hierro, la presencia de cifras anormalmente altas de hierro en el organismo. La sobrecarga de hierro es característica de individuos que sufren **hemocromatosis hereditaria**, una enfermedad genética que hace que el cuerpo absorba cantidades excesivas de hierro de la dieta. Otra fuente endógena de superóxido es la enzima **NADPH-hemoproteína reductasa** (citocromo P450 reductasa, capítulo 12), que cataliza la reducción de Fe^{3+} en la metahemoglobina a Fe^{2+}, lo que regenera hemoglobina competente desde el punto de vista funcional (capítulo 6).

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es una causa importante de anemia hemolítica

El conjunto limitado de vías metabólicas presentes en los eritrocitos hace que dependan por completo de la **vía de la pentosa fosfato** (capítulo 20) o, para ser más específico, la enzima ligada a X **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** para la reducción de $NADP^+$ a **NADPH**. El NADPH reducido se necesita para la reducción de GSSG a GSH, un antioxidante intracelular clave, por la enzima glutatión reductasa. Una deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa hace a los eritrocitos hipersensibles a estrés oxidativo. Uno de los datos característicos del estrés oxidativo en los eritrocitos es la formación de **cuerpos de Heinz**, agregados insolubles que constan de moléculas de hemoglobina

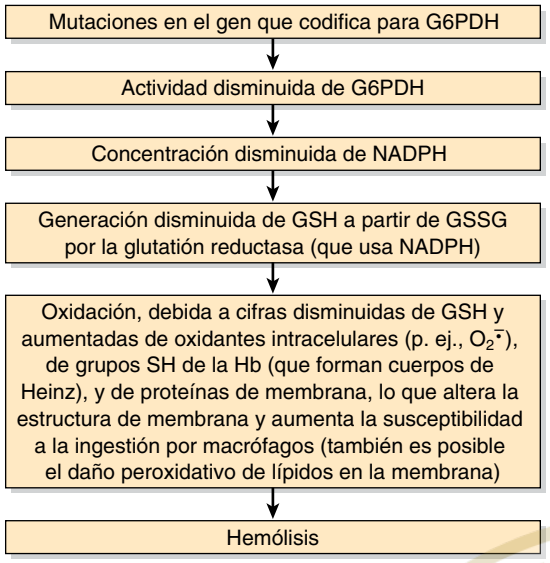


FIGURA 53-3 Resumen de eventos probables que causan anemia hemolítica debido a deficiencia de la actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (OMIM 305900).

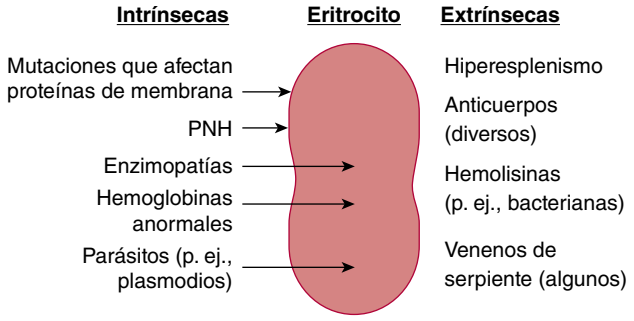


FIGURA 53-4 Diagrama esquemático de algunas causas de anemias hemolíticas. Las causas extrínsecas incluyen hiperesplenismo, diversos anticuerpos, ciertas hemolisinas bacterianas y algunos venenos de serpiente. Las causas intrínsecas a los eritrocitos son mutaciones que afectan las estructuras de proteínas de membrana (p. ej., en la esferocitosis hereditaria y en la eliptocitosis hereditaria), PNH (hemoglobinuria paroxística nocturna, capítulo 47), enzimopatías, hemoglobinas anormales y ciertos parásitos (p. ej., plasmodios que causan paludismo).

cuyos grupos —SH han quedado oxidados y que se tiñen de color púrpura con violeta de cresilo.

La deficiencia de actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es común en nativos de África tropical, el Mediterráneo, ciertas partes de Asia y en la parte no latina de América entre afroamericanos. Los individuos que albergan estas deficiencias son vulnerables a ataques de anemia hemolítica, originada por la incapacidad para generar suficiente glutatión reducido para combatir episodios de estrés oxidativo (**figura 53-3**). Aumentos repentinos de ROS que inducen síntomas pueden ser desencadenados por factores como la ingestión de fármacos **sulfonamida** o el antipalúdico **primaquina**, el consumo de alimentos que contienen pro oxidante, como habas *(Vicia faba),* o la exposición a sustancias químicas como naftaleno. La más común de las **enzimopatías** (enfermedades causadas por anormalidades de enzimas), se estima que más de 400 millones de personas portan una de las más de 140 variantes genéticas de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Al igual que el rasgo de células falciformes, la persistencia de estas variantes genéticas se ha atribuido a su potencial de conferir resistencia aumentada al paludismo.

Las anemias hemolíticas pueden ser causadas por factores extrínsecos, intrínsecos, o específicos para membrana

La anemia hemolítica puede desencadenarse por diversos factores además de deficiencias de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (**figura 53-4**). Las causas **extrínsecas** (más allá de la membrana del eritrocito) son **hiperesplenismo**, una enfermedad en la cual el agrandamiento del bazo hace que los eritrocitos queden secuestrados dentro de este órgano. Los eritrocitos también pueden sufrir lisis si son atacados por anticuerpos incompatibles presentes en plasma o sangre administrado por vía intravenosa (p. ej., **reacción de transfusión**). También pueden surgir incompatibilidades inmunitarias cuando un feto Rh^+ es portado por una madre Rh^- **(enfermedad por Rh)** o como una consecuencia de un trastorno autoinmunitario (p. ej., **anemias hemolíticas por anticuerpos calientes** o **fríos**). Algunos agentes infecciosos y tóxicos producen lisis de eritrocitos al socavar directamente la integridad estructural de la membrana del eritrocito. Por ejemplo, los venenos de diversos reptiles e insectos contienen fosfolipasas o proteasas que catalizan la desintegración hidrolítica de componentes de la membrana. De modo similar, algunas bacterias infecciosas (entre ellas ciertas cepas de *Escherichia coli* y clostridios) secretan factores líticos que constan de proteínas, lípidos o una combinación de los mismos llamadas **hemolisinas**. Las infecciones **parasitarias** (p. ej., los plasmodios que causan paludismo) también son causas importantes de anemias hemolíticas en ciertas áreas geográficas.

Las causas fundamentales de muchas anemias hemolíticas, como la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa son intracelulares, también llamadas **intrínsecas**. La deficiencia de **piruvato cinasa** es la segunda deficiencia de enzimas más común, aunque infrecuente, asociada con anemia hemolítica. La insuficiencia de esta enzima glucolítica clave altera la producción de ATP; esto repercute sobre múltiples aspectos de la integridad de la membrana, como la capacidad para exportar agua y iones como Na^+, excesivos. Los defectos de la composición o la estructura de la hemoglobina, llamados **hemoglobinopatías**, constituyen la segunda clase principal de hemólisis de origen intrínseco. Casi todas las hemoglobinopatías, como la anemia de células falciformes y las diversas talasemias (capítulo 6) son de naturaleza genética.

Los factores **específicos para membrana** que hacen a los eritrocitos vulnerables a lisis incluyen mutaciones que afectan las proteínas del citoesqueleto que se encargan de mantener su forma bicóncava y resistencia a la presión osmótica (véase más adelante). Los más importantes de estos defectos son la **esferocitosis hereditaria** y la **eliptocitosis hereditaria**, que surgen por anormalidades de la cantidad o la estructura de la proteína del citoesqueleto **espectrina**. La **hemoglobinuria paroxística nocturna** (capítulo 46) se origina por defectos de la síntesis de los grupos glucosil fosfatidilinositol que anclan ciertas proteínas, como la acetilcolinesterasa y el factor acelerador de la descomposición, a la superficie de la membrana del eritrocito.

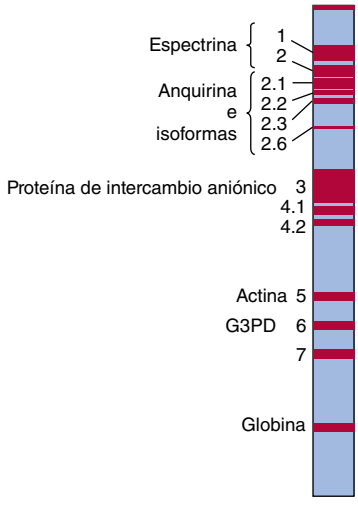


FIGURA 53-5 Proteínas de membrana importantes del eritrocito humano. Las proteínas separadas mediante SDS-PAGE se detectaron por medio de tinción con colorante azul de Coomassie. (Reproducido, con autorización, de Beck WS, Tepper RI: Hemolytic anemias III: membrane disorders. In: *Hematology*, 5th ed. Beck WS (editor). The MIT Press, 1991).

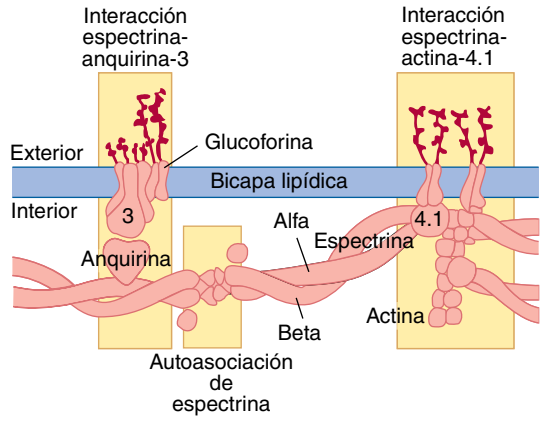


FIGURA 53-6 Interacciones de proteínas del citoesqueleto entre sí y con ciertas proteínas integrales de la membrana del eritrocito. (Reproducido, con autorización, de Beck WS, Tepper RI: Hemolytic anemias III: membrane disorders. In: *Hematology*, 5th ed. Beck WS (editor). The MIT Press, 1991).

MEMBRANA DEL ERITROCITO

Análisis tempranos mediante SDS-PAGE de los polipéptidos presentes en eritrocitos revelaron 10 proteínas importantes (**figura 53-5**). Estas proteínas inicialmente se designaron con base en su migración en la SDS-PAGE; las que mostraban migración más lenta (masa molecular más alta) se designaron proteína banda 1, también conocida como **espectrina** (**cuadro 53-4**). Algunas de estas proteínas están glucosiladas y abarcan la bicapa de la membrana (proteínas de membrana integrales), mientras que otras se asocian con su superficie, por lo general mediante interacciones proteína-proteína (proteínas de membrana periféricas) (**figura 53-6**).

La membrana de los eritrocitos contiene proteína de intercambio aniónico y las glucoforinas

La proteína banda 3 es una glucoproteína transmembrana orientada con su extremo carboxilo terminal que se proyecta desde la superficie externa de la membrana del eritrocito, y su extremo amino terminal desde la cara citosólica. La proteína banda 3, que se cree que existe como un dímero, es una proteína de membrana **multipaso** cuya cadena polipeptídica cruza la bicapa 14 veces. La función principal de esta **proteína de intercambio aniónico** es proporcionar un canal dentro de la membrana a través del cual puedan intercambiarse aniones cloruro y bicarbonato. En los tejidos, el bicarbonato generado por la hidratación de CO_2 es intercambiado por cloruro. En los pulmones, donde el dióxido de

CUADRO 53-4 Principales proteínas en la membrana del eritrocito

Número de banda[a]	Proteína	Integral (I) o periférica (P)	Masa molecular aproximada (kDa)
1	Espectrina (α)	P	240
2	Espectrina (β)	P	220
2.1	Anquirina	P	210
2.2	Anquirina	P	195
2.3	Anquirina	P	175
2.6	Anquirina	P	145
3	Proteína de intercambio aniónico	I	100
4.1	Sin nombre	P	80
5	Actina	P	43
6	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	P	35
7	Tropomiosina	P	29
8	Sin nombre	P	23
	Glucoforinas A, B y C	I	31, 23, y 28

[a] El número de banda se refiere a la posición de migración en SDS-PAGE (figura 53-5), en la cual no se muestran glucoforinas. Varios otros componentes no se listan (p. ej., 4.2 y 4.9).

Fuente: adaptado de Lux DE, Tse WT: Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 8th ed. Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, *et al* (eds). McGraw-Hill, 2001. Chapter 183.

carbono es exhalado, este proceso es revertido. El extremo amino terminal sirve como un punto de fijación para varias proteínas eritrocitarias, incluso las proteínas banda 4.1 y 4.2, anquirina, hemoglobina y varias enzimas glucolíticas.

Las **glucoforinas A, B y C son** proteínas transmembrana **de paso único** (la cadena polipeptídica cruza la membrana sólo una vez). El segmento transmembrana de 23 aminoácidos tiene configuración α-helicoidal. La glucoforina A, la forma predominante, está densamente glucosilada. El extremo amino terminal de este polipéptido de 131 aminoácidos es modificado por 16 cadenas de oligosacáridos, 15 de ellas O-enlazadas, que explican alrededor de 60% de su masa. Las cadenas de oligosacárido de la glucoforina A explican cerca de 90% de los residuos de ácido siálico unidos a la membrana del eritrocito. El extremo carboxilo terminal se extiende hacia el citosol y se une a la proteína banda 4.1 que, a su vez, se une a la espectrina. El **polimorfismo** de la glucoforina A proporciona la base del sistema de grupo sanguíneo MN (véase más adelante). Algunos virus y bacterias patógenos, como el virus de la gripe y *Plasmodium falciparum*, se dirigen a los eritrocitos al reconocer la glucoforina A y unirse a la misma. Curiosamente, los individuos cuyos eritrocitos carecen de glucoforina A no muestran efectos adversos.

La espectrina, anquirina y otras proteínas de membrana periféricas ayudan a determinar la forma del eritrocito y la flexibilidad del mismo

A fin de maximizar la eficiencia del intercambio de gases, los eritrocitos deben poseer la fuerza estructural para mantener su forma bicóncava, pero permanecer suficientemente flexibles para pasar apretadamente a través de capilares periféricos y los sinusoides del bazo. La bicapa lipídica de la membrana del eritrocito, que es inherentemente fluida, contribuye significativamente a la deformabilidad de la membrana del eritrocito. Una red fuerte pero flexible de **proteínas citoesqueléticas** tira de esta bicapa flexible hacia la forma bicóncava (figura 53-6).

La **espectrina** es la proteína más abundante del citoesqueleto del eritrocito. Está compuesta de dos polipéptidos de más de 2 100 residuos de longitud: espectrina 1 (cadena α) y espectrina 2 (cadena β). Las cadenas α y β de cada dímero de espectrina se entrelazan en una orientación antiparalela para formar una unidad estructural altamente extendida de ≈ 100 nm de longitud. En circunstancias normales, dos dímeros de espectrina se autoasocian cabeza a cabeza para formar un tetrámero de aproximadamente 200 nm de largo que está enlazado a la superficie interna de la membrana plasmática (y está unido por puentes a otros tetrámeros de espectrina) por medio de anquirina, actina y proteína banda 4.1. El resultado es una red interna, el citoesqueleto, que es lo bastante fuerte como para mantener la forma celular y resistir a la tumefacción debida a presión osmótica, pero suficientemente flexible como para permitir que el eritrocito se pliegue cuando es necesario.

La **anquirina** es una proteína en forma de pirámide que se **une a la espectrina**. A su vez, la anquirina se une estrechamente a la banda 3; ello asegura la fijación de la espectrina a la membrana. La anquirina es sensible a proteólisis, lo que explica la aparición de las bandas 2.2, 2.3 y 2.6, todas las cuales se derivan de la banda 2.1.

La **actina** (banda 5) existe en los eritrocitos como filamentos cortos, de doble hélice, de F-actina. El extremo cola de dímeros de espectrina se une a la actina. Esta última también se une a la proteína 4.1.

La **proteína 4.1**, una proteína globular, se une estrechamente al extremo cola de la espectrina, cerca del sitio de unión a actina de esta última y, así, forma parte de un complejo ternario de proteína 4.1-espectrina-actina. La proteína 4.1 también se une a las proteínas integrales glucoforina A y glucoforina C, lo que fija el complejo ternario a la membrana. Además, la proteína 4.1 puede interactuar con ciertos fosfolípidos de membrana, lo que conecta así la bicapa lipídica al citoesqueleto.

Ciertas otras proteínas menos prominentes desde el punto de vista cuantitativo, como la banda 4.9, aducina, y tropomiosina, también participan en el **montaje del citoesqueleto**.

Las anormalidades de la cantidad o la estructura de la espectrina causan esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria

La **esferocitosis hereditaria**, una enfermedad genética transmitida de manera autosómica dominante, afecta a alrededor de 1:5 000 personas de ascendencia del norte de Europa. Se caracteriza por la presencia de esferocitos (eritrocitos esféricos) con una proporción baja entre superficie y volumen) en la sangre periférica, por una **anemia hemolítica** y esplenomegalia. Los esferocitos son más vulnerables a lisis cuando quedan expuestos a la presión osmótica más baja que la normal, porque su forma esférica ofrece poca capacidad para dar cabida a agua adicional. Su forma anormal también los hace menos deformables y más propensos a destrucción en el bazo, lo que de este modo acorta mucho su vida en la circulación.

La **esferocitosis hereditaria** es causada por una deficiencia de la cantidad de **espectrina** o anormalidades de su estructura que aminoran su capacidad para asociarse con otros componentes del citoesqueleto. El debilitamiento consiguiente de los enlaces que anclan la membrana del eritrocito al citoesqueleto lleva a la adopción de la forma esferocítica. La esferocitosis hereditaria también puede producirse por mutaciones que generan anormalidades de la anquirina o de las bandas 3, 4.1 o 4.2. La anemia asociada con esferocitosis hereditaria generalmente se alivia por medio de extirpación quirúrgica del bazo **(esplenectomía)**.

La **eliptocitosis hereditaria** también se produce por trastornos genéticos que suscitan anormalidades de la **espectrina** o, con menor frecuencia, de la proteína banda **4.1** o de la **glucoforina C**. Puede distinguirse fácilmente de la esferocitosis hereditaria en virtud del hecho de que los eritrocitos afectados adoptan una forma elíptica, tipo disco.

LA BASE BIOQUÍMICA DEL SISTEMA ABO

Se han reconocido aproximadamente 30 sistemas de grupo sanguíneo en humanos, los mejor conocidos de los cuales son los sistemas **ABO**, **Rh** (Rhesus) y **MN**. El término **"grupo sanguíneo"** se aplica a un sistema definido de antígenos eritrocíticos (sustancias de grupo sanguíneo) controlados por un *locus* genético que tiene un número variable de alelos (p. ej., A, B y O en el

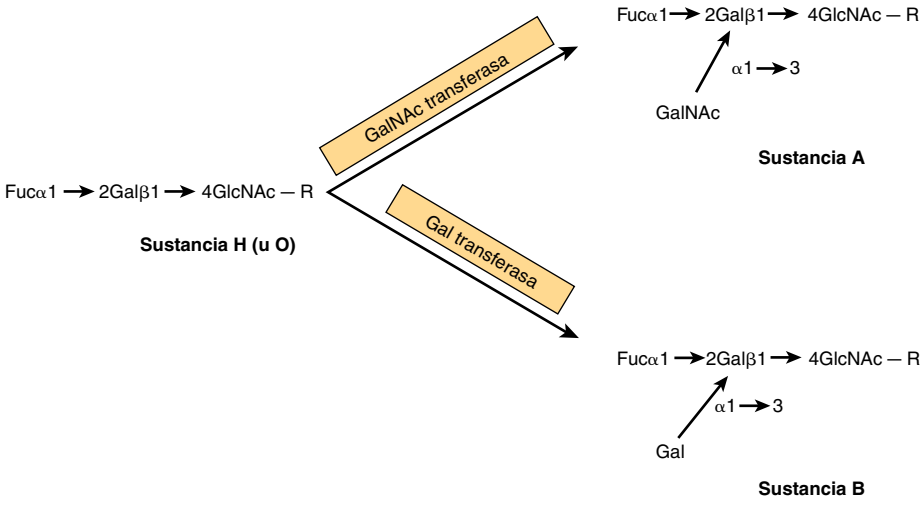


FIGURA 53-7 Diagrama de las estructuras de las sustancias del grupo sanguíneo H, A y B. R representa una cadena de oligosacáridos compleja larga, unida sea a ceramida donde las sustancias son glucoesfingolípidos, o al esqueleto polipeptídico de una proteína por medio de un residuo de serina o treonina, donde las sustancias son glucoproteínas. Note que las sustancias del grupo sanguíneo son biantenarias; esto es, tienen 2 brazos, formados en un punto de ramificación (no indicado) entre el GlcNAc—R, y sólo se muestra un brazo de la rama. De este modo, las sustancias H, A y B contienen, cada una, 2 de sus cadenas de oligosacáridos cortas respectivas arriba mostradas. La sustancia AB contiene una cadena tipo A y una cadena tipo B.

sistema ABO). El término **"tipo sanguíneo"** se refiere al fenotipo antigénico, por lo general reconocido mediante el uso de anticuerpos apropiados.

El sistema ABO es de importancia crucial en la transfusión de sangre

En 1900, Landsteiner descubrió el sistema ABO mientras estaba investigando la base de transfusiones compatibles e incompatibles en humanos. Las membranas de los eritrocitos de la mayoría de los individuos contienen una sustancia del grupo sanguíneo de tipo A, tipo B, tipo AB o tipo O. Los individuos de **tipo A** tienen anticuerpos anti-B en el plasma, que aglutinarán sangre tipo B o tipo AB; los individuos de **tipo B** tienen anticuerpos anti-A que aglutinarán sangre tipo A o tipo AB. La sangre **tipo AB** no tiene anticuerpos anti-A ni anti-B y se ha designado el **receptor universal**. La sangre **tipo O** no tiene antígenos A ni B y se ha designado el **donante universal**. El organismo por lo general no produce anticuerpos contra sus constituyentes propios. Así, los individuos tipo A no producen anticuerpos contra su sustancia del grupo sanguíneo A propia, pero poseen anticuerpos contra la sustancia de grupo sanguíneo extraña, B. Los anticuerpos anti-B probablemente surgen porque hay estructuras similares en microorganismos intestinales a los cuales el cuerpo queda expuesto en etapas tempranas de la vida. Los individuos tipo O poseen anticuerpos tanto A como B, pero sus eritrocitos carecen de los antígenos A y B. La descripción anterior se ha simplificado considerablemente. Por ejemplo, hay dos subgrupos de tipo A: A_1 y A_2. Los genes de los cuales depende la producción de las sustancias ABO están presentes en el brazo largo del cromosoma 9. Hay **tres alelos**, dos de los cuales son codominantes (A y B), y el tercero (O), recesivo; éstos finalmente determinan los cuatro productos fenotípicos: las sustancias A, B, AB y O.

Los antígenos ABO son glucoesfingolípidos y glucoproteínas

Los **antígenos ABO** son oligosacáridos complejos presentes en casi todas las células del organismo, y en ciertas secreciones (**figura 53-7**). Estos oligosacáridos están unidos a proteínas o lípidos de membrana y se denominan en conjunto sustancias ABO. Para los eritrocitos, los oligosacáridos de membrana que determinan las naturalezas antigénicas de las sustancias ABO parecen estar en su mayor parte presentes en **glucoesfingolípidos**, mientras que en secreciones los mismos oligosacáridos están presentes en **glucoproteínas**. Su presencia en secreciones está determinada por un gen designado ***Se*** (de "secretor"), que codifica para una **fucosil (Fuc) transferasa** en órganos secretores, como las glándulas exocrinas, pero que no es activo en eritrocitos. Los individuos de genotipos *SeSe* o *Sese* secretan el antígeno a o el antígeno B, o ambos, no así los individuos del genotipo *sese*. Empero, sus eritrocitos pueden expresar los antígenos A y B.

El gen *A* codifica para una GalNAc transferasa, el gen *B* para una Gal transferasa y el gen *O* para un producto inactivo

La **sustancia H**, la sustancia de grupo sanguíneo que se encuentra en personas de tipo O, es el precursor de las sustancias tanto A como B (figura 53-7). La sustancia H es formada mediante la acción de una **fucosiltransferasa** codificada para ser el *locus* H. Esta enzima cataliza la adición de la fucosa terminal en un enlace $\alpha 1 \rightarrow 2$ sobre el residuo Gal terminal de su precursor:

$$\underset{\text{Precursor}}{\text{GDP} - \text{Fuc} + \text{Gal} - \beta - \text{R}} \rightarrow \underset{\text{Sustancia H}}{\text{Fuc} - \alpha 1,2 - \text{Gal} - \beta - \text{R}} + \text{GDP}$$

La **sustancia A** contiene un GalNAc adicional, mientras que la **sustancia B** contiene una Gal adicional, enlazada como se indicó; estas diferencias son el resultado de una mutación que altera la especificidad de la glucosiltransferasa que añade el monosacárido adicional. El gen *A* codifica para una **GalNAc transferasa** específica para UDP-GalNAc que añade el GalNAc terminal a la sustancia H. El gen *B* codifica para **Gal transferasa** específica para UDP-Gal que añade el residuo de Gal a la sustancia H. Los individuos de **tipo AB** poseen ambas enzimas y, así, tienen dos cadenas de oligosacáridos (figura 53-7), una terminada por GalNAc y la otra por Gal.

Los anticuerpos anti-A se dirigen al residuo de GalNAc adicional presente en la sustancia A, y los anticuerpos anti-B se dirigen hacia el residuo de Gal adicional que se encuentra en la sustancia B. Para la sustancia del grupo A, GalNAc es el **azúcar inmunodominante** (esto es, el que determina la especificidad del anticuerpo formado), mientras que Gal es el azúcar inmunodominante de la sustancia B. Los individuos de tipo O tienen una mutación por cambio de cuadro en el gen que codifica para la glucosil transferasa terminal, que da por resultado la producción de una proteína inactiva. De este modo, la sustancia H es su sustancia del grupo sanguíneo ABO.

El alelo *h* del *locus* H codifica para una fucosiltransferasa inactiva. Los individuos del genotipo *hh* no pueden generar sustancia H, el precursor de los antígenos A y B, aun cuando poseen las enzimas necesarias para convertir la sustancia H en las sustancias A o B. Los individuos que portan el genotipo *hh* tendrán eritrocitos del tipo O, lo que se denomina el fenotipo Bombay (O_h).

PLAQUETAS

Las plaquetas contienen mitocondrias, pero carecen de un núcleo

En respuesta a la trombopoyetina, los megacariocitos que constituyen los progenitores de los eritrocitos pueden fragmentarse para formar plaquetas (figura 53-1). Al igual que los eritrocitos, las plaquetas carecen de un núcleo pero, a diferencia de los eritrocitos, poseen mitocondrias, lisozimas y una red tubular que forma un **sistema canalicular abierto**. Este panal de canales aumenta el área de superficie de las plaquetas, que son esferoidales en reposo, lo que facilita la secreción de diversos factores endocrinos y de la coagulación en el momento de estimulación (capítulo 55). Estos factores son almacenados dentro de las plaquetas, dentro de vesículas secretoras densamente empacadas, llamadas **gránulos densos**, que contienen Ca^{2+}, ADP y serotonina, y **gránulos α**, que contienen fibrinógeno, fibronectina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de Von Willebrand y otros factores de la coagulación. En circunstancias normales, estas células enucleadas pequeñas (2 μm de diámetro) circulan a una densidad de 2 a 4 × 10^5 plaquetas por mililitro de sangre. Si bien las plaquetas obtienen la mayor parte de su energía a partir del metabolismo de glucosa, sus mitocondrias les permiten generar ATP por medio de la β-oxidación de ácidos grasos. En el capítulo 55 se comentan los mecanismos mediante los cuales las plaquetas quedan activadas para participar en la formación de un coágulo.

Los trastornos plaquetarios comprometen la hemostasia

Las anormalidades del número de plaquetas o de la función de las mismas pueden tener graves consecuencias biomédicas. El **síndrome coronario agudo** se caracteriza por la formación de plaquetas agrandadas, hiperreactivas, que dan lugar a un incremento del riesgo de trombosis, la formación de coágulos de sangre dentro de la circulación. La presencia de plaquetas más grandes que lo normal también se correlaciona con una frecuencia aumentada de infarto de miocardio.

La **púrpura trombocitopénica inmunitaria** es un trastorno autoinmunitario que se caracteriza por recuentos plaquetarios deprimidos **(trombocitopenia)** causados por la generación de anticuerpos contra las plaquetas propias del paciente. Las plaquetas cuya superficie está cubierta con anticuerpos quedan sujetas a depuración desde la circulación por macrófagos esplénicos. En algunos casos, autoanticuerpos contra plaquetas se unirán a megacariocitos en diferenciación, lo que deprime la producción de plaquetas. También puede ocurrir trombocitopenia cuando personas que son homocigóticas para una variante mutante de glucoproteína IIb/IIIa, en la cual la leucina 33 es reemplazada por prolina, reciben sangre de un donador que es homocigótico o heterocigótico para la forma natural de este antígeno plaquetario importante. La exposición a plaquetas del donante desencadena la producción de aloanticuerpos que atacan no sólo las plaquetas donadas, sino también las plaquetas endógenas del paciente. En la **trombocitopenia aloinmunitaria neonatal**, que afecta a alrededor de 1 de cada 200 embarazos a término, anticuerpos de la circulación materna cruzan la barrera placentaria y atacan plaquetas en el sistema circulatorio del feto.

La trombocitopenia también puede ser inducida por fármacos como tamoxifén, ibuprofén, vancomicina, y muchas otras sulfonamidas. Los síntomas de **síndrome hemolítico-urémico**, una enfermedad de lactantes caracterizada por insuficiencia renal progresiva, incluyen tanto trombocitopenia como anemia hemolítica. El sangrado anormal asociado con **enfermedad de Von Willebrand** es causado por un defecto genético que compromete la capacidad de las plaquetas para adherirse al endotelio, más que un déficit del número de plaquetas. Otros trastornos hemorragíparos originados por defectos de la adherencia plaquetaria comprenden el **síndrome de Bernard-Soulier** (deficiencia genéticamente heredada de la glucoproteína 1b) y la **trombastenia de Glanzmann** (deficiencia genéticamente heredada del complejo de glucoproteína IIb/IIIa).

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE HA TENIDO PROFUNDAS REPERCUSIONES SOBRE LA HEMATOLOGÍA

La tecnología de DNA recombinante ha tenido repercusiones importantes sobre muchos aspectos de la hematología. Las bases de las **talasemias** y de muchos **trastornos de la coagulación** (capítulo 55) se han aclarado mucho por investigaciones en las que se utilizan clonación de gen y secuenciación de DNA. El estudio de oncogenes y de translocaciones cromosómicas ha hecho avanzar

el entendimiento de las **leucemias**. Como se comentó, las técnicas de clonación han puesto a disposición cantidades terapéuticas de **eritropoyetina** y de **otros factores de crecimiento**. La deficiencia de **adenosina desaminasa,** una enfermedad que afecta los linfocitos en particular, fue la primera enfermedad que se trató mediante terapia génica. En 1990, el Dr. William French Anderson introdujo una nueva copia de gen, portada en un vector retroviral, en una niña de cuatro años de edad que sufría inmunodeficiencia combinada grave (enfermedad del niño burbuja). Si bien la paciente aún requirió tomar medicamentos, el gen de reemplazo ha permanecido estable hasta la adultez.

RESUMEN

- Las causas más importantes de anemia comprenden pérdida de sangre; deficiencias de hierro, folato y vitamina B_{12}, así como diversos factores que causan hemólisis.
- La forma del eritrocito contribuye a la eficiencia del intercambio de gases y a su capacidad para sufrir deformación que facilita su paso a través de capilares.
- La producción de eritrocitos y plaquetas está regulada por la eritropoyetina, trombopoyetina y otras citocinas.
- Los eritrocitos maduros carecen de orgánulos internos y, por ende, dependen de la glucólisis para generar ATP.
- La 2,3-difosfoglicerato reductasa isomeriza el intermediario glucolítico 1,3-difosfoglicerato para formar el 2,3-difosfoglicerato, que estabiliza la hemoglobina en estado T.
- La metahemoglobina es incapaz de transportar oxígeno. Se reconocen causas tanto genéticas como adquiridas de metahemoglobinemia.
- La citocromo b_5 reductasa reduce el Fe^{3+} de la metahemoglobina a Fe^{2+}, lo cual restituye la función.
- El eritrocito contiene una batería de enzimas citosólicas (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa) que catalizan la neutralización de oxidantes potentes (ROS) generados durante su metabolismo.
- La deficiencia de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, determinada genéticamente, que produce NADPH, es una causa importante de anemia hemolítica.
- Las proteínas del citoesqueleto, como espectrina, anquirina y actina, interactúan con proteínas de membrana integrales específicas para ayudar a regular la forma y la flexibilidad de los eritrocitos.
- La deficiencia de espectrina da por resultado esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria, ambas causas de anemia hemolítica.
- La banda 4.1 es la proteína transmembrana que facilita el intercambio de iones bicarbonato y cloruro por eritrocitos.
- Las sustancias del grupo sanguíneo ABO en la membrana del eritrocito son glucoesfingolípidos complejos. El azúcar inmunodominante de una sustancia A es la *N*-acetil-lactosamina, mientras que la de la sustancia B es la galactosa. La sustancia O no contiene estos dos residuos de azúcar en los enlaces particulares que se encuentran en las sustancias A y B.
- Las plaquetas son fragmentos enucleados pequeños de células precursoras más grandes llamadas megacariocitos.
- Cuando son activadas, las plaquetas liberan moléculas efectoras y fibrinógeno almacenados en gránulos secretores.
- La enfermedad de Von Willebrand, un trastorno hemorrágico, depende de una mutación genética que altera la capacidad de las plaquetas para adherirse.

REFERENCIAS

Dzierzak E, Philipsen S: Erythropoiesis: development and differentiation. Cold Spring Harb Perspect Med 2013;3:a011601.

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, *et al* (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. McGraw-Hill, 2008. (Chapters 58, 61, & 98-108 deal with various blood disorders. Chapters 66-68 deal with various aspects of hematopoietic and other stem cells).

Hofmann R, Benz EJ Jr, Shattal SJ, *et al* (editors): *Hematology: Basic Principles and Practice*, 4th ed. Elsevier Churchill Livingston, 2005.

Imlay JA: Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. Annu Rev Biochem 2008;77:755.

Israels SJ (editor): *Mechanisms in Hematology*, 4th ed. Core Health Sciences Inc, 2011.

Martin JF, Kristensen SD, Mathur A, *et al*: The causal role of megakaryocyte platelet hyperactivity in acute coronary syndromes. Nat Rev Cardiol 2012;9:658.

Naria A, Ebert BL: Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. Blood 2010;115:3196.

Orkin SH, Higgs DR: Sickle cell disease at 100 years. Science 2010;329:291.

Smyth SS, Whiteheart S, Italiano JE Jr, Coller BS: Platelet morphology, biochemistry, and function. In: *Williams Hematology*, 8th ed. Kaushansky K, Lichtman MA, Beutler E, *et al* (editors). McGraw-Hill, 2010;1735.

Weatherall DJ: The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health problem. Blood 2010;115:4331.

Whichard ZL, Sarkar CA, Kimmel M, Corey SJ: Hematopoiesis and its disorders: a systems biology approach. Blood 2010;115:2339.

CAPÍTULO 54

Leucocitos

Peter J. Kennelly, PhD & Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender que los leucocitos funcionan concertadamente para combatir infección y desencadenar una respuesta inflamatoria.
- Describir los pasos básicos en la eliminación de microorganismos infecciosos mediante fagocitosis.
- Comprender la función de la quimiotaxis en la función de los leucocitos.
- Listar los componentes clave que se encuentran dentro de los gránulos de fagocitos, así como de basófilos, y sus funciones primarias.
- Mencionar las especies reactivas de oxígeno producidas durante la explosión respiratoria.
- Explicar la base para los efectos fisiológicos causados por defectos del sistema de NADPH oxidasa.
- Detallar la base molecular de la deficiencia de adhesión leucocitaria tipo 1.
- Describir cómo los neutrófilos y los eosinófilos atrapan parásitos al usar NET (trampas extracelulares de neutrófilo).
- Comprender la función de las células T auxiliares en la producción de anticuerpos nuevos.
- Definir el término citocina y describir las características clave de las interleucinas, los interferones, las prostaglandinas y los leucotrienos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los **leucocitos**, o glóbulos blancos, sirven como centinelas clave y potentes defensores contra agentes patógenos invasores. El tipo más abundante de leucocito, llamado **neutrófilo**, ingiere y destruye bacterias y hongos invasores, un proceso conocido como **fagocitosis**. Los parásitos más grandes son fagocitados por **eosinófilos**. Los **monocitos** circulantes migran desde el torrente sanguíneo hacia tejidos enfermos, donde se diferencian hacia **macrófagos** fagocíticos. Los **granulocitos**, como los **basófilos** y los **mastocitos**, liberan efectores almacenados que atraen leucocitos adicionales al sitio de infección y desencadenan una respuesta inflamatoria. Los **linfocitos B** generan y liberan anticuerpos protectores con la ayuda de **linfocitos T**. Otros linfocitos, como las **células T citotóxicas** y las **células asesinas naturales**, establecen como objetivo células huésped infectadas por virus o que muestran transformación maligna.

Las neoplasias malignas de tejidos formadores de sangre, llamadas **leucemias**, pueden llevar a la producción descontrolada de una o más de las principales clases de leucocitos. La hiperactivación de granulocitos que ocurre como parte de una respuesta alérgica puede, en casos extremos, llevar a **anafilaxia** y muerte. El daño de la médula ósea o la infección de la misma puede llevar a **leucopenia**, una depresión de la producción de leucocitos. El déficit resultante de las cifras de leucocitos circulantes puede dejar al individuo afectado vulnerable a infección **(con alteración inmunitaria)**. La leucopenia puede producirse por lesión física, quimioterapia, radiación ionizante, infección por el **virus de Epstein-Barr** (mononucleosis), una respuesta autoinmunitaria **(lupus)** o el desplazamiento de células de la médula ósea por tejidos fibrosos **(mielofibrosis)**.

LA DEFENSA CONTRA INFECCIÓN REQUIERE MÚLTIPLES TIPOS DE CÉLULAS

Los leucocitos son participantes clave en la **respuesta inflamatoria aguda**, un proceso de múltiples componentes que defiende al cuerpo contra microorganismos infecciosos y aminora las repercusiones de la infección tisular o de la morbilidad. Los principales pasos en una respuesta inflamatoria son 1) un aumento de la permeabilidad vascular, 2) la entrada de leucocitos activados a los tejidos, 3) activación de plaquetas y 4) resolución espontánea si se ha afrontado de manera exitosa a los microorganismos invasores. Los **basófilos** secretan efectores hematológicos, como la

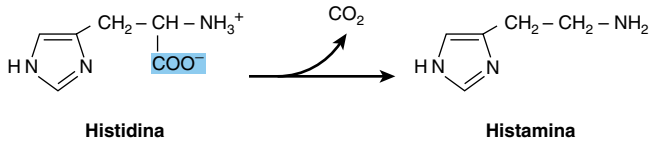


FIGURA 54-1 **Estructuras de la histidina y su producto de descarboxilación, histamina.**

histamina (**figura 54-1**), que facilitan la acumulación de líquido dentro de tejidos infectados o dañados, así como quimiocinas que atraen **neutrófilos** adicionales. Los neutrófilos activados encapsulan bacterias invasoras dentro de vesículas de membrana **(fagocitosis)** y las destruyen al usar una combinación de enzimas hidrolíticas, especies reactivas de oxígeno (ROS) y péptidos antimicrobianos. Los **monocitos** circulantes son los precursores de **macrófagos** fagocíticos, que fagocitan células huésped infectadas y dañadas. Los **linfocitos** producen anticuerpos protectores que se dirigen a invasores extraños y los marcan para eliminación.

Los leucocitos, a diferencia de los eritrocitos y las plaquetas, poseen una dotación completa de orgánulos internos. El núcleo de muchos leucocitos muestra desviaciones notorias desde el orgánulo compacto, esférico, presente en casi todas las células eucariontes; por ejemplo, el núcleo de los monocitos es extraordinariamente grande y de forma notoriamente irregular. El núcleo de los **leucocitos polimorfonucleares**, como los neutrófilos y los eosinófilos, se segmenta hacia múltiples lóbulos.

MÚLTIPLES EFECTORES REGULAN LA PRODUCCIÓN DE LEUCOCITOS

Casi todos los leucocitos se recambian con rapidez y, así, deben ser reemplazados de manera continua; por ejemplo, el lapso de vida de un leucocito mieloide circulante varía de algunas horas a algunos días, mientras que casi todos los linfocitos persisten durante sólo algunas semanas en la sangre. Una excepción notable a este patrón son los **linfocitos de memoria**, que pueden vivir varios años. La producción de monocitos y granulocitos procede por medio de la formación de un **progenitor mieloide común**, mientras que la diferenciación de células madre hematopoyéticas hacia linfocitos procede por medio de la formación de un **progenitor linfoide común** (figura 53-1). La proliferación de células madre hematopoyéticas y la determinación de su destino final están controladas por las influencias concertadas de múltiples moléculas efectoras. Por ejemplo, el factor de crecimiento de células madre, el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, y las interleucinas 5 y 6, estimulan la producción de granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) y monocitos, un proceso que procede por medio de la formación de **células progenitoras mieloides**. El factor de necrosis tumoral α, el factor de crecimiento transformante β1, y las interleucinas 2 y 7, promueven la formación de **células progenitoras linfoides** y su maduración final hacia linfocitos B y T.

LOS LEUCOCITOS SON MÓVILES

Los leucocitos migran en respuesta a señales químicas

Los leucocitos pueden encontrarse en todo el cuerpo; migran de la sangre a sitios de lesión o infección en respuesta a señales químicas, un proceso denominado **quimiotaxis**. La locomoción tiene lugar por medio de un mecanismo **ameboide**, por pasos. Impelido por las proteínas del citoesqueleto, el leucocito extiende una proyección, llamada un seudópodo. Una vez que el seudópodo se fija por sí mismo, las proteínas del citoesqueleto asociadas con el cuerpo principal de la célula se contraen y hacen pasar el contenido de la célula hacia adelante y hacia el seudópodo. El seudópodo se llena con citoplasma y orgánulos, lo que forma un nuevo cuerpo celular translocado. Los restos vacíos del cuerpo celular viejo son absorbidos y un nuevo seudópodo se extiende para iniciar el siguiente paso.

Los leucocitos empiezan su migración desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos circundantes al pasar apretadamente a través de las paredes de capilares. Dicho proceso, llamado **diapédesis**, es un reflejo del movimiento ameboide en su dependencia de la capacidad de las proteínas del citoesqueleto para modificar de forma notoria la forma del leucocito. El proceso empieza con la extensión de una proyección tipo seudópodo delgada entre las células que comprenden el epitelio capilar (**figura 54-2**). Al igual que con el movimiento ameboide, el contenido de la célula a continuación se hace pasar a través del paso estrecho formado por la proyección hacia el extremo distal, que se llena para formar un nuevo cuerpo celular en el lado opuesto de la pared capilar.

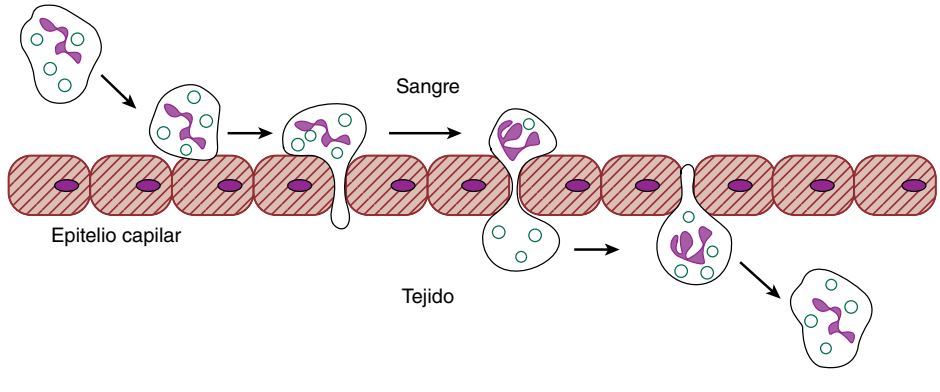


FIGURA 54-2 **Diapédesis.** Se muestran, de izquierda a derecha, los principales pasos en la diapédesis, el proceso mediante el cual los neutrófilos y otros leucocitos atraviesan la pared capilar, cuyas células se muestran en rojo, en respuesta a señales quimiotácticas. Los núcleos de las células se muestran en púrpura, y los gránulos en verde.

La quimiotaxis está mediada por receptores acoplados a proteína G

Los leucocitos son atraídos hacia tejidos por **factores quimiotácticos** que incluyen quimiocinas, el fragmento de complemento C5a, péptidos pequeños derivados de bacterias (p. ej., *N*-formil-metionil-leucil-fenilalanina) y varios leucotrienos. La unión de estos factores a receptores de superficie celular específicos activa una cascada de transducción de señal similar a la que media la activación de plaquetas. Ambas cascadas son iniciadas por unión del ligando a receptores que contienen dominios que abarcan siete veces la membrana, que están estrechamente acoplados con proteínas de unión a nucleótido guanosina heterotriméricas **(proteínas G)**. Las proteínas G activan la **fosfolipasa C**, que hidroliza fosfatidilinositol 4,5-bifosfato para producir **diacilgliceroles** y el segundo mensajero hidrosoluble **inositol 1,4,5-trifosfato** (IP_3). La aparición de IP_3 desencadena la liberación de Ca^{2+}, lo cual lleva a un incremento transitorio de la concentración citoplasmática de Ca^{2+}. En neutrófilos, la aparición de Ca^{2+} citoplasmático activa los componentes del citoesqueleto de actina y miosina de los cuales dependen la migración celular y la secreción de gránulos. El diacilglicerol, junto con el Ca^{2+}, estimula la proteína cinasa C e induce su translocación del citosol a la membrana plasmática, donde cataliza la **fosforilación** de diversas proteínas, entre ellas algunas involucradas en el desencadenamiento de la explosión respiratoria (véase más adelante).

Las quimiocinas son estabilizadas por enlaces disulfuro

Las quimiocinas son proteínas pequeñas, por lo general de 6 a 10 kDa, secretadas por leucocitos activados, que atraen leucocitos adicionales a un sitio de infección o lesión. Las quimiocinas pueden dividirse en cuatro subclases con base en el número y el espaciamiento de los residuos de cisteína que participan en la formación de los enlaces disulfuro que estabilizan la conformación de la proteína (**figura 54-3**). Las quimiocinas tipo C se caracterizan por la presencia de un par de residuos de cisteína conservados que forman un enlace disulfuro intracadena. Además del enlace disulfuro conservado presente en el tipo C, los otros tres grupos de quimiocina reconocidos poseen un segundo enlace disulfuro. En las quimiocinas tipo CC, uno de los residuos de cisteína adicionales yace adyacente al primero del primer par de residuos universalmente conservados. En los tipos CXC y CX_3C, estas cisteínas están separadas por uno y tres residuos de aminoácido interpuestos, respectivamente. Las quimiocinas CX_3C, las más grandes de los cuatro tipos de citocinas, tienen un C terminal más largo que incluye sitios de modificación covalente mediante glucosilación.

Las integrinas facilitan la diapédesis

La adhesión de leucocitos a células endoteliales vasculares está mediada por glucoproteínas transmembrana de las familias de la **integrina** y de la **selectina** (véase la exposición sobre **selectinas** en el capítulo 46). Las **integrinas** constan de una subunidad α y una β enlazadas de manera no covalente. Cada subunidad contiene segmentos extracelular, transmembrana e intracelular. Los segmentos extracelulares se unen a diversas proteínas de superficie celular que poseen secuencias Arg-Gli-Asp (p. ej., varios componentes de la matriz extracelular). Los dominios intracelulares se unen a diversas proteínas del citoesqueleto, como actina y vinculina. Las integrinas ayudan a integrar las respuestas de leucocitos (p. ej., movimiento y fagocitosis) a cambios en el ambiente en virtud de su capacidad para enlazar los exteriores de células a sus interiores por medio de sus dominios de unión dobles. En el **cuadro 54-1** se listan algunas integrinas de interés específico respecto a neutrófilos.

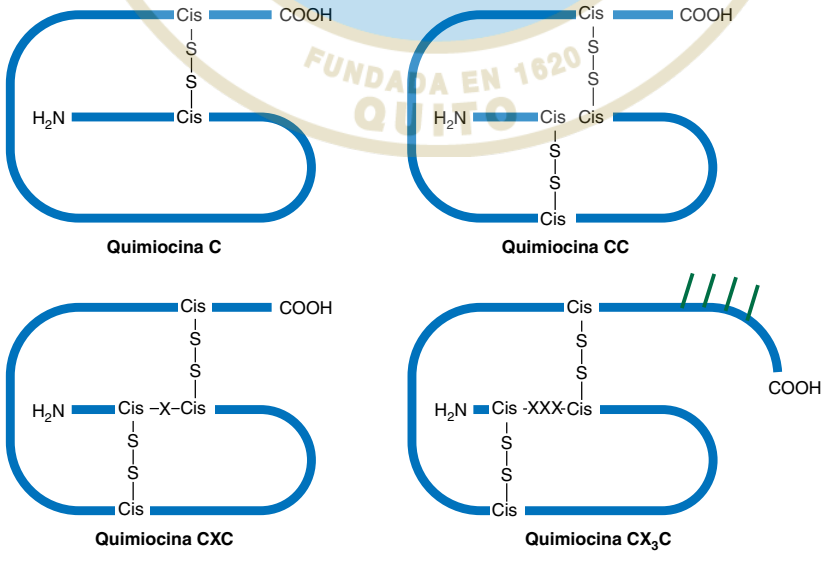


FIGURA 54-3 Quimiocinas. Esta figura muestra las características estructurales clave de las quimiocinas tipos C, CC, CXC y CX_3C. Las cadenas polipeptídicas se representan en azul, con sus amino y carboxilo terminales marcados por H_2N y COOH, respectivamente. Residuos de histidina clave se denotan como Cis, enlaces disulfuro conservados en S-S, y aminoácidos espaciadores para los tipos CXC y CX_3C usando X. El carbohidrato unido se representa en verde.

CUADRO 54-1 Principales integrinas de los leucocitos, y de las plaquetas[a]

Integrina	Célula	Subunidad	Ligando	Función
VLA-1 (CD49a)	Leucocitos, otras	α1β1	Colágeno, laminina	Adhesión célula-ECM
VLA-5 (CD49e)	Leucocitos, otras	α5β1	Fibronectina	Adhesión célula-ECM
VLA-6 (CD49f)	Leucocitos, otras	α6β1	Laminina	Adhesión célula-ECM
LFA-1 (CD11a)	Leucocitos	αLβ2	ICAM-1	Adhesión de leucocitos
Glucoproteína IIB/IIIa	Plaquetas	αIIbβ3	ICAM-2	
Fibrinógeno, fibronectina, factor de Von Willebrand	Adhesión y agregación plaquetarias			

[a] CD, agrupación de diferenciación; ECM, matriz extracelular; ICAM, molécula de adhesión intercelular; LFA-1, antígeno asociado con la función de linfocito 1; VLA, antígeno muy tardío.

Nota: una deficiencia de LFA-1 y de integrinas relacionadas se encuentra en la deficiencia de adhesión leucocitaria tipo 1 (OMIM 116920). Una deficiencia del complejo de glucoproteína IIb/IIIa plaquetaria se encuentra en la trombastenia de Glanzmann (OMIM 273800), una enfermedad que se caracteriza por un antecedente de sangrado, un recuento plaquetario normal y retracción anormal del coágulo. Estos datos ilustran cómo el conocimiento fundamental de las proteínas de adhesión de superficie celular está aclarando la causa de diversas enfermedades.

La **deficiencia de adhesión leucocitaria tipo 1** es causada por una falta de la subunidad β_2 (también designada CD18) de LFA-1, y de dos integrinas relacionadas que se encuentran en neutrófilos y macrófagos, Mac-1 (CD11b/CD18) y p150,95 (CD11c/CD18). La pérdida de estas proteínas altera la capacidad de los leucocitos afectados para adherirse a células endoteliales, el primer paso en la diapédesis. Dado que menos leucocitos entran a sus tejidos infectados, los individuos afectados tienden a sufrir infecciones bacterianas y micóticas recurrentes.

LOS MICROBIOS INVASORES Y LAS CÉLULAS INFECTADAS SON DESECHADOS MEDIANTE FAGOCITOSIS

Los fagocitos ingieren células blanco

Un mecanismo clave mediante el cual los leucocitos destruyen microorganismos invasores es la **fagocitosis** (**figura 54-4**). Los leucocitos fagocíticos reconocen células blanco y se unen a ellas, usando receptores que reconocen sus grupos de superficie endógenos, como lipopolisacáridos bacterianos o peptidoglucanos. Sin embargo, los agentes patógenos infecciosos casi siempre son reconocidos de manera indirecta, por la presencia de anticuerpos o factores de complemento que previamente se han adherido a su superficie (capítulo 52). El proceso de marcado de un invasor con proteínas protectoras para facilitar el reconocimiento por leucocitos fagocíticos se conoce como **opsonización**.

La unión de receptor desencadena alteraciones notorias de la forma del fagocito, que procede a envolver la célula blanco hasta que queda encerrada dentro de una vesícula de membrana internalizada que recibe el nombre de **fagosoma** (fagolisosoma). La célula internalizada a continuación es destruida usando una combinación de enzimas hidrolíticas (p. ej., lisozima, proteasas), péptidos antimicrobianos (defensinas) y especies reactivas de oxígeno. Las enzimas y toxinas de las cuales depende la lisis de la célula envuelta y la desintegración de sus componentes macromoleculares (**cuadro 54-2**) son almacenadas en vesículas citoplasmáticas que se fusionan con el fagosoma. Estas vesículas a menudo se denominan **gránulos** y las células que los albergan, **granulocitos**, con base en su aspecto cuando se examinan al microscopio. Con el tiempo, el fagosoma migra a la membrana plasmática del leucocito, donde se fusiona y expulsa los restos que quedan.

Los componentes de estos restos, que incluyen fragmentos de proteínas, oligosacáridos, lipopolisacáridos, peptidoglucanos y polinucleótidos, proporcionan una importante fuente de antí-

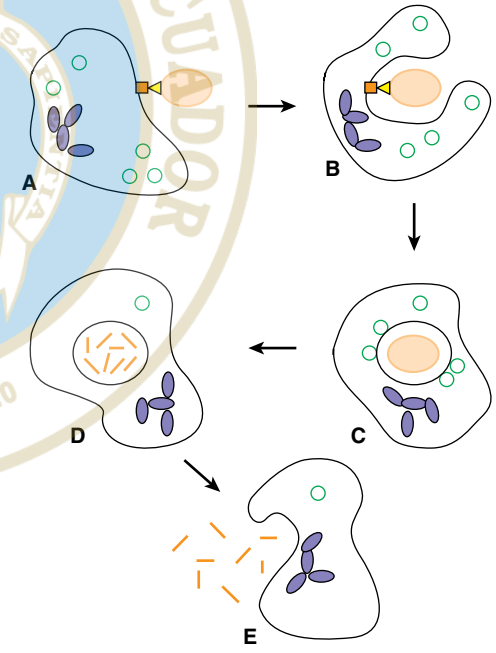


FIGURA 54-4 Fagocitosis. Esta figura representa la destrucción de un microorganismo opsonizado, sombreado de anaranjado, por un neutrófilo por medio de fagocitosis. El núcleo multilobulado del neutrófilo se muestra en púrpura, y los gránulos secretores en verde. La presencia de una marca con anticuerpo o complemento es indicada por un triángulo amarillo, en tanto que el receptor de superficie celular correspondiente, como un cuadrado anaranjado claro. Los restos celulares del microorganismo se representan como segmentos de línea anaranjados. **A)** El neutrófilo se une a una molécula de antígeno sobre el microbio opsonizado, por medio de un receptor. **B)** El neutrófilo envuelve el microbio. **C)** Los gránulos secretores se fusionan con el fagosoma recién internalizado, y suministran su contenido. **D)** Enzimas derivadas de gránulos y citotoxinas destruyen el microorganismo. **E)** A continuación, el fagosoma se fusiona con la membrana celular y expulsa cualesquier restos que hayan quedado.

CUADRO 54-2 Enzimas y proteínas de los gránulos de leucocitos fagocíticos

Enzima o proteína	Reacción catalizada o función	Comentario
Mieloperoxidasa (MPO)	$H_2O_2 + X^-$ (halido) $+ H^+ \rightarrow HOX + H_2O$ donde $X^- = Cl^-$, HOX = ácido hipocloroso	Es la causa del color verde del pus La deficiencia genética puede causar infecciones recurrentes
NADPH oxidasa	$2O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^{\cdot-} + NADP + H^+$	Componente clave de la explosión respiratoria Deficiente en la enfermedad granulomatosa crónica
Lisozima	Hidroliza el enlace entre el ácido *N*-acetilneuramínico y *N*-acetil-D-glucosamina que se encuentra en ciertas paredes celulares bacterianas	Abundante en macrófagos. Hidroliza peptidoglucanos bacterianos
Defensinas	Péptidos antibióticos básicos de 20 a 33 aminoácidos	Al parecer mata bacterias al causar daño de membrana
Lactoferrina	Proteína de unión a hierro	Puede inhibir el crecimiento de ciertas bacterias al unirse a hierro y puede estar involucrada en la regulación de la proliferación de células mieloides
Elastasa Colagenasa Gelatinasa Catepsina G	Proteasas	Abundante en fagocitos; componentes de desintegración de proteína de microorganismos infecciosos; genera fragmentos para presentación de antígeno

genos para estimular la producción de anticuerpos nuevos. Los linfocitos y otros leucocitos absorben estos materiales por medio de endocitosis (figura 40-21). El fagocito a menudo absorberá algunos de los restos desde el fagosoma y los dirigirá a la superficie celular en asociación con una proteína de membrana, el **complejo principal de histocompatibilidad (MHC)**. El MHC sirve como un andamio para presentar antígenos potenciales a linfocitos circundantes en una forma que estimula la producción de anticuerpos nuevos.

Las tres clases principales de leucocitos fagocíticos son **neutrófilos**, **eosinófilos** y **macrófagos**. Los neutrófilos, que comprenden alrededor de 60% de los leucocitos presentes en la circulación, fagocitan bacterias y microorganismos eucariontes pequeños, como hongos. Los **eosinófilos**, menos numerosos, que constituyen 2 a 3% de los leucocitos en la sangre, ingieren microorganismos eucariontes más grandes, como **parameci**os. Los macrófagos se derivan de monocitos, que comprenden un 5% de los leucocitos en la sangre. Los monocitos migran desde el torrente sanguíneo hacia tejidos de todo el organismo donde, en el momento de recibir un estímulo, se diferencian para formar **macrófagos**. Si bien los macrófagos también pueden ingerir microbios invasores, la función característica de estos fagocitos grandes es eliminar células huésped humanas que han quedado comprometidas por infección, transformación maligna o muerte celular programada, también conocida como **apoptosis**. Estas células funcionalmente comprometidas son reconocidas por la aparición de proteínas y oligosacáridos aberrantes sobre su superficie. La activación precoz de macrófagos se asocia con la causa de muchas enfermedades degenerativas, como osteoporosis, aterosclerosis, artritis y fibrosis quística, y puede facilitar las metástasis de células cancerosas.

Los leucocitos fagocíticos generan especies reactivas de oxígeno durante la explosión respiratoria

Las **especies reactivas de oxígeno (ROS)** como $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2, $OH^{\cdot}$, y HOCl (ácido hipocloroso) forman un componente importante del arsenal químico y enzimático empleado por fagocitos para destruir células ingeridas. La producción de los diversos derivados de oxígeno reactivos tiene lugar poco tiempo (15 a 60 segundos) después de la internalización de una célula encapsulada, usando O_2 y electrones derivados de NADPH. El aumento repentino acompañante del consumo de oxígeno se ha denominado la **explosión respiratoria**. La producción de grandes cantidades de NADPH es facilitada por la dependencia intensa de los fagocitos (que contienen relativamente pocas mitocondrias) de la glucólisis aeróbica para generar ATP. La necesidad consiguiente de mantener suministro robusto de precursores e intermediarios glucolíticos asegura la disponibilidad de la glucosa 6-fosfato requerida para reducir el $NADP^+$ a NADPH por medio de la vía de la pentosa fosfato (capítulo 20).

La formación de derivados de oxígeno reactivos microbicidas durante la explosión respiratoria empieza con la síntesis de superóxido, que es catalizada por el **sistema de NADPH oxidasa.** La catálisis procede por medio de un mecanismo de dos pasos. El primer paso es la reducción de oxígeno molecular para formar superóxido (cuadro 54-2):

$$2O_2 + NADPH + H + \rightarrow 2O_2^{\cdot-} + NADP^+ + H$$

Esto va seguido por la dismutación espontánea de **peróxido de hidrógeno** desde dos moléculas de superóxido:

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

El sistema de NADPH oxidasa consta de **citocromo b_{558}**, un heterodímero asociado a la membrana plasmática, que contiene polipéptidos de 91 kDa y 22 kDa y dos péptidos citoplasmáticos de 47 kDa y 67 kDa. En el momento de la activación, los péptidos citoplasmáticos son reclutados a la membrana plasmática, donde se asocian con citocromo b_{558} para formar el complejo activo. El NADPH es generado mediante el ciclo de la pentosa fosfato, cuya actividad también se incrementa de manera notoria durante la fagocitosis. Cualquier superóxido proveniente de los fagosomas que entra al citosol es convertido en H_2O_2 por la **superóxido**

dismutasa, que cataliza la misma reacción que la dismutación espontánea antes mostrada. A su vez, el H_2O_2 es usado por la mieloperoxidasa (véase más adelante) o eliminado por la acción de la glutatión peroxidasa o catalasa.

La mieloperoxidasa cataliza la producción de oxidantes clorados

La formación de ácidos hipohalosos durante la explosión respiratoria es catalizada por la enzima **mieloperoxidasa**.

$$H_2O_2 + X^- + H^+ \xrightarrow{\text{MIELOPEROXIDASA}} HOX + H_2O$$

(X^- = Cl^-, Br^-, I^- o SCN^-; HOX = ácido hipohaloso)

Esta enzima, presente en grandes cantidades en gránulos de neutrófilos, usa H_2O_2 para oxidar Cl^- y otros haluros para producir ácidos hipohalosos como **HOCl**. El HOCl, el ingrediente activo del blanqueador líquido doméstico, es un potente oxidante que es altamente microbicida. Cuando se aplica a tejidos normales, su potencial para causar daño es disminuido porque reacciona con aminas primarias o secundarias presentes en neutrófilos y tejidos para producir diversos derivados de nitrógeno-cloro. Aunque también son oxidantes, estas **cloraminas** son menos potentes que el HOCl y, por ende, pueden actuar como agentes microbicidas (p. ej., en la esterilización de heridas) sin causar daño tisular.

Las mutaciones que afectan el sistema de NADPH oxidasa causan enfermedad granulomatosa crónica

Las mutaciones funcionalmente perjudiciales en genes que codifican para cualquiera de los cuatro polipéptidos del sistema de NADPH oxidasa pueden causar **enfermedad granulomatosa crónica**. El decremento resultante de la producción de derivados reactivos de oxígeno disminuye la capacidad de los neutrófilos y de otros leucocitos fagocíticos para matar bacterias y otros microbios infecciosos. Quienes sufren esta enfermedad relativamente poco común experimentan infecciones recurrentes. También forman granulomas (lesiones inflamatorias crónicas) en piel, pulmones y ganglios linfáticos para aislar agentes patógenos invasores. En algunos casos, puede proporcionarse alivio mediante la administración de interferón γ, que puede aumentar la transcripción del componente de 91 kDa del citocromo b_{558}.

LOS NEUTRÓFILOS Y LOS EOSINÓFILOS EMPLEAN NET PARA ATRAPAR PARÁSITOS

Además de ingerir microorganismos pequeños, como bacterias, mediante fagocitosis, los neutrófilos y los eosinófilos pueden ayudar en la eliminación de invasores más grandes al atraparlos dentro de redes llamadas **trampas extracelulares de neutrófilos** o **NET** (**figura 54-5**). La dispersión (**descondensación**) de los cromosomas de un neutrófilo proporciona cadenas de polinucleótido extendidas que sirven como el centro de una NET. Este proceso comprende rotura de la membrana nuclear y la alteración de interacciones carga-carga favorables que estabilizan la estructura

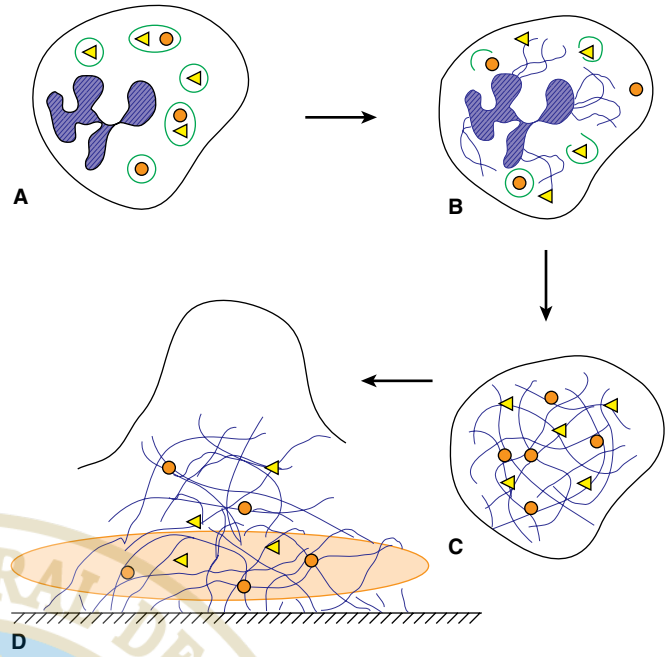


FIGURA 54-5 Atrapamiento de parásitos usando NET. La figura describe las etapas básicas en la formación y despliegue de una red basada en DNA por un neutrófilo o eosinófilo para atrapar un microorganismo parasitario. **A)** Neutrófilo en reposo. El núcleo multilobulado se muestran en púrpura rayado, los gránulos intracelulares en verde, y las enzimas y citotoxinas de gránulos como círculos anaranjados y triángulos amarillos. **B)** En el momento de estimulación, las membranas que encierran el núcleo y los gránulos se rompen, con lo cual se liberan enzimas, citotoxinas y cadenas de DNA (púrpura) desde cromosomas en descondensación. **C)** Las cadenas de DNA forman una red que llena el interior de la célula a la cual algunas proteínas derivadas de gránulo se adhieren. **D)** El neutrófilo sufre lisis y libera su red de DNA-proteína, que atrapa el parásito (anaranjado) contra la superficie del epitelio (rayada).

compacta de la cromatina. La disolución de complejos de histona-polinucleótido es promovida por la desiminación enzimática de las cadenas laterales de residuos de arginina, que son protonados a pH fisiológico, para formar residuos de citrulina, cuyas cadenas laterales son neutras, mediante **peptidil arginina desiminasa** (**figura 54-6**). Algunas proteínas de cromatina permanecen asociadas con el DNA y proporcionan enlaces covalentes entre las cadenas de polinucleótidos. Las membranas de gránulos también se rompen en este momento y liberan su contenido hacia

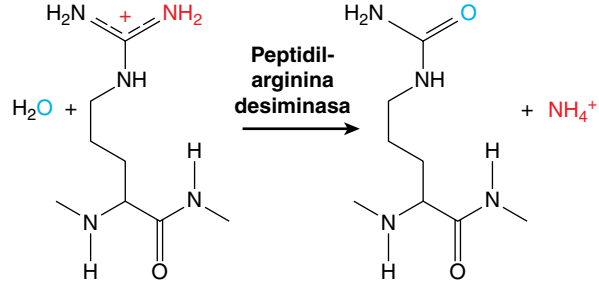


FIGURA 54-6 Citrulinación. La enzima peptidil arginina desiminasa desplaza uno de los grupos imino (rojo) en la cadena lateral de arginina por un átomo de oxígeno (azul) derivado del agua. El resultado neto el reemplazo de una carga positiva proporcionada por la cadena lateral arginina protonada por una amida, que es neutral.

el citoplasma donde pueden unirse a cadenas de polinucleótido en dispersión, lo que une proteasas derivadas de gránulo, péptidos antimicrobianos y otros factores al DNA. Por último, los neutrófilos sufren lisis para liberar sus NET sobre parásitos invasores, lo cual los inmoviliza, obstaculiza su diseminación y ayuda a su eliminación.

PROTEASAS DERIVADAS DE FAGOCITOS PUEDEN DAÑAR LAS CÉLULAS SANAS

Los macrófagos y otros fagocitos producen muchas proteinasas (cuadro 54-2), varias de las cuales pueden hidrolizar elastina, diversos tipos de colágeno y otras proteínas presentes en la matriz extracelular. Si se permite que proceda sin oposición esto puede dar por resultado daño grave de tejidos. Si bien pequeñas cantidades de elastasa y otras proteinasas escapan hacia tejidos normales, sus actividades normalmente son mantenidas bajo control por varias **antiproteinasas** presentes en el plasma y el líquido extracelular (capítulo 52). Las antiproteinasas como la **α_2-macroglobulina** circulante actúan al formar un complejo no covalente con una o más proteinasas específicas, lo que inhibe su actividad. Un defecto genético que permite que la elastasa actúe sin oposición por el **inhibidor de la α_1-antiproteinasa** (α_1-antitripsina) sobre el tejido pulmonar, contribuye de manera significativa a la causa de enfisema.

Las concentraciones altas de oxidantes clorados que se forman durante inflamación pueden inclinar la balanza entre proteinasas y antiproteinasas a favor de las primeras. Por ejemplo, en el HOCl **activa** algunas de las proteinasas que se listan en el cuadro 54-2, mientras que, en contraste, el HOCl **desactiva** ciertas antiproteinasas. Además, la elastasa activada puede hidrolizar el inhibidor tisular de metaloproteinasas y α_1-antiquimotripsina, y la colagenasa y gelatinasa activadas pueden hidrolizar el inhibidor de α_1-antiproteinasa. Mientras que por lo general se mantiene un **equilibrio apropiado** de proteinasas y antiproteinasas, en ciertas circunstancias, como en el pulmón cuando el inhibidor de la α_1-antiproteinasa es deficiente, o cuando se acumulan grandes cantidades de neutrófilos en tejidos debido a drenaje insuficiente, puede haber considerable **daño de tejido**.

LOS LEUCOCITOS SE COMUNICAN AL USAR EFECTORES SECRETADOS

El desarrollo de una respuesta inmunitaria y la inflamación acompañante de tejidos lesionados o infectados requiere la acción coordinada de leucocitos y otras células. La activación de leucocitos vecinos y el reclutamiento de leucocitos adicionales a un sitio de lesión o infección, están mediados por moléculas efectoras secretadas, entre ellas citocinas, leucotrienos e histamina. Estos efectores casi siempre están almacenados dentro de vesículas de membrana intracelulares que, en el momento de la estimulación, migran hacia la membrana plasmática y se fusionan con la misma para expulsar, o **secretar**, su contenido. El término **granulocito** se refiere los leucocitos, como los basófilos, eosinófilos y leucocitos, cuyas vesículas secretoras son lo bastante grandes, numerosas y densas como para impartir un aspecto claramente granular al interior de estas células cuando se observan al microscopio.

El término **citocina** se refiere a un grupo diverso de proteínas secretadas pequeñas, por lo general de menos de 25 kDa de masa, que incluye a las **interleucinas**, los **interferones** y las **quimiocinas**. El nombre de las interleucinas, de las cuales se han caracterizado más de tres docenas, se deriva de las células en las cuales son sintetizadas y a partir de las cuales son secretadas. Por lo general se designan por la abreviatura de clase **IL**, seguida por un número de identificación, por ejemplo, IL1, IL3, IL22. Por otro lado, el nombre de los interferones **(IFN)** se deriva de su capacidad para inhibir (o interferir con) la replicación de virus infectantes. Hasta la fecha se han identificado alrededor de 10 familias de interferones en animales. La función característica de las quimiocinas es servir como atrayentes químicos que estimulan los leucocitos para que migren hacia su fuente **(quimiotaxis)**. Casi todas las citocinas están glucosiladas. En general, estimulan tanto los leucocitos a partir de los cuales son secretadas **(señalización autocrina)**, como otros tipos de leucocitos **(señalización paracrina)**. Históricamente, las citocinas se han distinguido de las hormonas por su asociación con la inmunidad y la inflamación.

Los leucocitos también secretan mediadores lipídicos, llamados **eicosanoides**, producidos por la oxidación del ácido araquidónico (capítulo 15). Estos mediadores lipídicos caen en dos clases amplias: **leucotrienos** y **prostaglandinas.** Los leucotrienos se caracterizan por la presencia de un grupo de tres dobles enlaces carbono-carbono conjugados. Varios de los leucotrienos incorporan el aminoácido cisteína hacia su estructura. Las prostaglandinas, que se aislaron por vez primera a partir de la glándula próstata, contienen 20 átomos de carbono, y se distinguen por la presencia de anillo de cinco miembros.

La **histamina** (figura 54-1), que es sintetizada por descarboxilación del aminoácido histidina, es un mediador que es secretado en grandes cantidades por **basófilos** y **mastocitos**. La histamina funciona con otros factores hematológicos, como la heparina y los eicosanoides, para mantener el flujo sanguíneo hacia el área y estimular la acumulación de plasma derivado de la sangre en tejido infectado y lesionado. La acumulación de líquido (edema) resultante constituye un componente clave de la respuesta inflamatoria que acompaña la activación del sistema inmunitario porque facilita mucho la migración de leucocitos adicionales al área afectada en respuesta a mediadores quimiotácticos.

LOS LINFOCITOS PRODUCEN ANTICUERPOS PROTECTORES

Los **linfocitos** constituyen aproximadamente 30% de los leucocitos presentes en la sangre. En virtud de su capacidad para producir anticuerpos protectores nuevos, optimizados para unirse a antígenos recién encontrados (capítulo 53), los linfocitos constituyen la piedra angular del **sistema inmunitario adaptativo** del organismo. La clasificación de los linfocitos en tipos B y T originalmente se basó en la identidad de los tejidos en los cuales cada forma completó su maduración. En especies aviares, los linfocitos B (células B) son procesados en la **bolsa de Fabricio**. En humanos, que carecen de este órgano, las células B maduran en la médula ósea. La maduración de **linfocitos T (células T)** tiene

lugar en el **timo**. Los anticuerpos solubles presentes en humores corporales, por ejemplo, plasma y líquidos intersticiales, son secretados por linfocitos B. Por esta razón, se dice que las células B confieren **inmunidad humoral**.

Se dice que los linfocitos que todavía tienen que ser estimulados para que produzcan inmunoglobulinas son **vírgenes**. La síntesis de un nuevo anticuerpo puede ser desencadenada por varios mecanismos. Los linfocitos pueden unirse directamente a invasores extraños por medio de uno de los muchos receptores presentes sobre su superficie, que incluyen proteínas configuradas para unirse a glucoproteínas, lipopolisacárido o peptidoglucano bacterianos. De manera alternativa, el linfocito puede ser activado cuando encuentra un antígeno que ha sido desplegado o presentado sobre la superficie de otro leucocito en asociación con el complejo mayor de histocompatibilidad. Los macrófagos, neutrófilos y linfocitos fagocíticos llamados **células plasmáticas** muestran o presentan fragmentos de macromoléculas que han destruido por fagocitosis. Las **células T auxiliares** ingieren antígeno (mediante endocitosis), incluso restos expulsados por fagocitos y los presentan sobre su superficie. Las **células T auxiliares** sirven como "conmutadores celulares", que coordinan la respuesta inmunitaria al recibir, procesar y enviar señales desde, y hacia, otros componentes del sistema inmunitario.

Las **células T citotóxicas** reconocen proteínas que aparecen sobre la superficie de células huésped como una consecuencia de infección viral o transformación oncogénica. Una vez unidas, inducen la lisis de la célula blanco usando proteínas llamadas perforinas, que forman canales en la membrana plasmática y proteasas llamadas granzimas. Las granzimas imitan la acción de las proteasas catepsina endógenas que desencadenan muerte celular programada **(apoptosis)**. Las **células asesinas naturales** semejan células T citotóxicas, pero contienen gránulos que tienen en su interior sustancias químicas tóxicas adicionales para ayudar en su ataque.

RESUMEN

- La eliminación de microorganismos infecciosos comprende las acciones acumulativas de múltiples tipos de leucocitos, entre ellos linfocitos, fagocitos y basófilos.
- Los leucocitos se comunican al usar moléculas efectoras secretadas, como quimiocinas, prostaglandinas, leucotrienos, interleucinas e interferones.
- Los leucocitos migran de la sangre a los tejidos en respuesta a atrayentes químicos específicos, un proceso llamado quimiotaxis.
- El movimiento ameboide y la diapédesis de leucocitos se fundamenta en flexibilidad y deformación celulares mediadas por el citoesqueleto.
- Los basófilos secretan histamina y heparina, que facilitan la migración de leucocitos al inducir la acumulación de líquido en un sitio de infección o lesión.
- Las integrinas median la adhesión de leucocitos al endotelio vascular, el primer paso en la migración hacia tejidos infectados.
- Los fagocitos internalizan microorganismos invasores dentro de vesículas de membrana llamadas fagosomas.
- La destrucción de los microorganismos fagocitados se logra al usar una combinación de especies reactivas de oxígeno (la explosión respiratoria), enzimas hidrolíticas y péptidos citotóxicos.
- Las mutaciones en proteínas del sistema de la NADPH oxidasa causan enfermedad granulomatosa crónica.
- Los neutrófilos y los eosinófilos inhiben parásitos grandes al inmovilizarlos dentro de redes formadas principalmente a partir de su DNA cromosómico.
- La descondensación de DNA cromosómico es facilitada por citrulinación de cadenas laterales arginina de histonas.
- Los linfocitos producen inmunoglobulinas protectoras (anticuerpos).
- Los fagocitos y las células T auxiliares estimulan la producción de anticuerpos nuevos al presentar fragmentos de macromoléculas derivadas de agente patógeno en asociación con una proteína de membrana llamada el complejo principal de histocompatibilidad.
- Las células T citotóxicas y las células asesinas naturales reconocen y destruyen células huésped que muestran proteínas de superficie celular características de infección viral o transformación maligna.

REFERENCIAS

Adkis M, Burgler S, Crameri R, *et al*: Interleukins, from 1 to 37, and interferon-γ: receptors, functions, and roles in diseases. J Allergy Clin Immunol 2011;127:701.

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, *et al* (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. McGraw-Hill, 2008. (Chapters 58, 61, & 98-108 deal with various blood disorders. Chapters 66-68 deal with various aspects of hematopoietic and other stem cells).

Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA: The multifaceted functions of neutrophils. Annu Rev Pathol 2014;9:181.

Nordenfelt P, Tapper H: Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. J Leukocyte Biol 2011;90:271. van den Berg JM, Van Koppen E, Ahlin A, *et al*: Chronic granulomatous disease: the European experience. PLoS ONE 2009;4:e5234.

Whichard ZL, Sarkar CA, Kimmel M, Corey SJ: Hematopoiesis and its disorders: a systems biology approach. Blood 2010;115:2339.

Wynn TA, Chawla A, Pollard JW: Macrophage development in development, homeostasis and disease. Nature 2013;496:445.

Yonekawa K, Harlan JM: Targeting leukocyte integrins in human diseases. J Leukoc Biol 2005;77:129.

Preguntas de examen

Sección X - Temas especiales (B)

1. Describa brevemente el modo de acción de la nitroglicerina, un fármaco de uso común para tratar angina.
2. Los pacientes que están recibiendo tratamiento para insuficiencia cardíaca a menudo muestran expresión disminuida y regulación defectuosa de SERCA2a, la principal Ca^{2+}-ATPasa del retículo sarcoplasmático. Explique cómo los defectos en esta proteína podrían contribuir al deterioro de la función cardíaca.
3. Liste un punto de similitud y un punto de diferencia entre el modo de acción de la cinasa de cadena ligera de miosina en el músculo liso *versus* estriado.
4. Un paciente anestesiado usando un compuesto halotano muestra un notorio aumento de la temperatura corporal, una conducta indicativa de hipertermia maligna (MH). De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La MH puede surgir por mutaciones que alteran la secuencia de aminoácidos de la Na^{+}-K^{+}-ATPasa.
   B. La MH puede surgir por mutaciones que alteran la secuencia de aminoácidos del canal de liberación de Ca^{2+} sensible a rianodina.
   C. La rigidez muscular que ocurre durante MH es desencadenada por la presencia de concentración alta de Ca^{2+} en el citoplasma.
   D. La MH puede surgir por mutaciones que alteran la secuencia de aminoácidos del canal de Ca^{2+} tipo K, lento, sensible a voltaje.
   E. La MH puede tratarse mediante la administración por vía intravenosa de dantroleno, que inhibe la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplasmático hacia el citosol.
5. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La F-actina es formada por la polimerización de eje-actina.
   B. La miosina es el principal componente de los filamentos gruesos que se encuentran en el músculo estriado.
   C. Los filamentos delgados están conectados entre sí por α-actinina.
   D. El sistema de troponina regula la contracción de músculo liso.
   E. El Ca^{2+} sirve como un segundo mensajero para la regulación de la contracción de los músculos liso, cardíaco y esquelético.
6. De las que siguen, seleccione la que NO es una característica del ciclo contráctil en el músculo estriado:
   A. La unión de Ca^{2+} a troponina C descubre los sitios de unión a miosina sobre la actina.
   B. El golpe de potencia es iniciado por la liberación de P_i desde el complejo de actina-miosina-ADP-P_i.
   C. La liberación de ADP desde el complejo de actina-miosina-ADP es acompañada por un cambio grande de la conformación del dominio de cabeza de miosina (respecto a su dominio de cola).
   D. La unión de ATP por miosina aumenta su afinidad por la actina.
   E. El *rigor mortis* depende de la inhabilidad de la actina para liberarse del complejo de actina miosina cuando las células tienen deficiencia de ATP.
7. De las que siguen, seleccione la que NO sirve como una reserva de energía importante para reabastecer el ATP en el tejido muscular:
   A. Glucógeno.
   B. Creatina fosfato.
   C. ADP (conjuntamente con adenilil cinasa).
   D. Ácidos grasos.
   E. Adrenalina.
8. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Los fármacos colchicina y vinblastina inhiben el montaje de microtúbulos.
   B. Las mutaciones que afectan la queratina pueden llevar a formación de ampollas.
   C. Las mutaciones en el gen que codifica para lamina A y lamina C causan progeria (envejecimiento acelerado).
   D. Las α -y β-tubulina son los principales componentes de las fibras de estrés.
   E. Los motores moleculares, como la dineína, kinesina y dinamina impulsan el movimiento ciliar, el transporte de vesículas y la endocitosis.
9. Explique brevemente la conexión entre enfermedad hepática y edema crónico.
10. Describa la función de la haptoglobina en la protección de los riñones contra los efectos en potencia dañinos de la hemoglobina extracorpuscular.
11. Describa brevemente cómo la activación de la citidina desaminasa ayuda a generar inmunoglobulinas con sitios de unión a antígeno singulares.
12. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La interleucina-1 estimula la producción de proteínas de fase aguda.
   B. El hierro debe ser reducido al estado ferroso (Fe^{2+}) para ser recuperado por medio del ciclo de la transferrina.
   C. Muchas proteínas del complemento son zimógenos.
   D. El receptor de transferrina tipo 2 (TfR2) funciona principalmente como un detector de hierro.
   E. La lectina de unión a manosa se une a grupos de carbohidrato presentes sobre la superficie de bacterias invasoras.
13. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La albúmina es sintetizada como una proproteína.
   B. La albúmina es estabilizada por múltiples enlaces disulfuro intracadena.
   C. La albúmina es una glucoproteína.
   D. La albúmina facilita el movimiento de ácidos grasos por la circulación.
   E. La albúmina es el principal determinante de la presión osmótica del plasma.
14. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La enfermedad de Wilson puede tratarse usando quelantes de cobre, como la penicilamina.
   B. La enfermedad de Wilson se caracteriza por toxicosis por cobre (concentración anormalmente alta de cobre).
   C. La enfermedad de Wilson es causada por mutaciones en el gen que codifica para la ceruloplasmina.
   D. La albúmina facilita el movimiento de fármacos sulfonamida por la circulación.

E. La albúmina puede perderse del organismo si la mucosa intestinal queda inflamada.

15. Usted encuentra a una mujer de 50 años de edad en la clínica que está pálida y cansada. Sospecha que la mujer sufre anemia por deficiencia de hierro y le prescribe una serie de análisis de laboratorio. De los resultados potenciales de análisis que siguen, seleccione el que NO sería congruente con su diagnóstico provisional:
   A. Concentración más baja que lo normal de protoporfirina eritrocitaria.
   B. Saturación aumentada de transferrina.
   C. Expresión aumentada de TfR.
   D. Concentración plasmática aumentada de hepcidina.
   E. Concentración disminuida de hemoglobina.

16. De las que siguen, seleccione la que NO es una causa potencial de amiloidosis:
   A. Acumulación de β_2-macroglobulina.
   B. Depósito de fragmentos derivados de cadenas ligeras de inmunoglobulina.
   C. Acumulación de productos de degradación del amiloide A sérico.
   D. Presencia de formas mutacionalmente alteradas de transtiretina.
   E. Deficiencia de amilasa.

17. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Todas las inmunoglobulinas contienen al menos dos polipéptidos de cadena pesada y dos polipéptidos de cadena ligera.
   B. Las cadenas polipeptídicas de las inmunoglobulinas están enlazadas entre sí por enlaces disulfuro.
   C. Las inmunoglobulinas son multivalentes.
   D. Las inmunoglobulinas están glucosiladas.
   E. Las inmunoglobulinas son componentes primarios del sistema inmunitario innato del organismo.

18. Explique el enlace de cómo una deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa dentro de los eritrocitos puede llevar a anemia hemolítica.

19. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. El área de superficie alta de eritrocitos bicóncavos facilita el intercambio de gases.
   B. La eliptocitosis hereditaria puede ser causada por defectos de la espectrina o una deficiencia de la misma.
   C. El diámetro de los eritrocitos excede el de muchos capilares periféricos.
   D. La proteína 4.1 ayuda a enlazar el citoesqueleto del eritrocito a proteínas en la membrana plasmática de la célula.
   E. Para pasar por capilares estrechos, los eritrocitos deben apretarse hacia una forma compacta, esférica.

20. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Los eritrocitos contienen concentración alta de superóxido dismutasa.
   B. Las sustancias A y D se forman por la adición de fucosa y *N*-acetilglucosamina, respectivamente, a la sustancia H.
   C. Las plaquetas generan ATP exclusivamente por medio de glucólisis.
   D. Los eritrocitos maduros están desprovistos de orgánulos internos.
   E. Las membranas del eritrocito contienen cifras altas de la proteína de intercambio aniónico banda 3.

21. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La eritropoyetina estimula la formación de eritrocitos a partir de células madre hematopoyéticas.
   B. Las células madre multipotentes pueden diferenciarse hacia células de un tipo estrechamente relacionado.
   C. La anhidrasa carbónica aumenta la capacidad de los eritrocitos para transportar CO_2.
   D. El GLUT1 media el transporte activo de glucosa hacia eritrocitos.
   E. La hipoxia estimula la producción de eritropoyetina por los riñones.

22. Un paciente recientemente expuesto a anilina muestra pigmentación azulada de la piel y las mucosas. A partir de la lista que aparece a continuación, seleccione un diagnóstico provisional plausible:
   A. Metahemoglobinemia.
   B. Hemocromatosis hereditaria.
   C. Síndrome 5q.
   D. Púrpura trombocitopénica inmunitaria.
   E. Trombastenia de Glanzmann.

23. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. La quimiotaxis de leucocitos está mediada por receptores acoplados a proteína G.
   B. La capacidad del citoesqueleto para manipular de manera notoria la morfología de los leucocitos es crucial para la quimiotaxis, fagocitosis y secreción.
   C. Los leucocitos secretan proteasas para generar aberturas entre células endoteliales vasculares durante diapédesis.
   D. La acumulación de líquido en un sitio de infección facilita la migración de leucocitos.
   E. La deficiencia de adhesión leucocitaria es causada por un fracaso para expresar polipéptidos integrina.

24. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Las interleucinas son mediadores clave de la producción de leucocitos.
   B. Los linfocitos producen anticuerpos protectores.
   C. Los monocitos se pueden encontrar en los tejidos de todo el cuerpo.
   D. El factor hematológico histamina es sintetizado por la desaminación del aminoácido histidina.
   E. El término "polimorfonuclear" se refiere a leucocitos que poseen un núcleo segmentado.

25. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Los fagocitos destruyen bacterias ingeridas al usar especies reactivas de oxígeno y enzimas hidrolíticas.
   B. La enfermedad granulomatosa crónica es causada por una deficiencia de la actividad de mieloperoxidasa.
   C. El NADPH sirve como la fuente primaria de electrones para generar ROS durante la explosión respiratoria (oxidativa).
   D. Los neutrófilos ayudan en la eliminación de algunos parásitos al entremezclarlos en NET formadas a partir de su DNA cromosómico.
   E. Las quimiocinas son estabilizadas mediante la formación de enlaces disulfuro intracadena.

26. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Los leucocitos activados secretan mediadores lipídicos llamados interferones.
   B. Los neutrófilos facilitan la producción de anticuerpos protectores al presentar fragmentos de microbios fagocitados sobre su superficie en asociación con el complejo principal de histocompatibilidad (MHC).

C. Las células T citotóxicas usan perforinas para producir lisis de células infectadas.
D. Los anticuerpos solubles son liberados hacia el plasma principalmente por linfocitos B.
E. El enfisema puede surgir por la acción de elastasa y otras proteasas derivadas de gránulos sobre tejido pulmonar.

27. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. Casi todas las proteínas mitocondriales son codificadas por el genoma nuclear.
B. Las proteínas Ran, al igual que las proteínas ARF y Ras, son GTPasas monoméricas.
C. Una causa de la enfermedad de Refsum son mutaciones en genes que codifican para proteínas peroxisomales.
D. Las proteínas peroxisomales son sintetizadas en polirribosomas citosólicos.
E. La importación de proteínas hacia mitocondrias comprende proteínas conocidas como importinas.

28. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. Los péptidos señal *N*-terminal que dirigen proteínas nacientes hacia la membrana del ER contienen una secuencia hidrofóbica.
B. En especies de mamíferos no ocurre translocación postraduccional de proteínas al ER.
C. La SRP contiene una especie de RNA.
D. La *N*-glucosilación es catalizada por la oligosacárido:proteína transferasa.
E. Las proteínas de membrana tipo I tienen sus *N*-terminales mirando hacia la luz del ER.

29. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. Las chaperonas a menudo muestran actividad de ATPasa.
B. La proteína disulfuro isomerasa y la peptidil prolil isomerasa son enzimas involucradas en la ayuda al plegamiento apropiado de proteínas.
C. La ubiquitina es una proteína pequeña involucrada en la degradación de proteína por lisosomas.
D. Las mitocondrias contienen chaperonas.
E. La retrotranslocación a través de la membrana del ER está involucrada en la ayuda al desecho de proteínas que muestran plegamiento erróneo.

30. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. La Rab es una GTPasa pequeña involucrada en la dirección de vesículas.
B. Las vesículas de COPII están involucradas en el transporte anterógrado de carga del ER al ERGIC o aparato de Golgi.
C. La brefeldina A evita que el GTP se una ARF y, así, inhibe la formación de vesículas de COPI.
D. La toxina botulínica B actúa al dividir sinaptobrevina, al inhibir la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular.
E. La furina convierte la pre pro albúmina en pro albúmina.

31. ¿Cuál de los tipos de proteína que siguen NO actúa como una GTPasa?
A. Factor de ribosilación de ADP (ARF).
B. Proteínas Rab.
C. Factor sensible a *N*-etilmaleimida (NSF).
D. Sar1.
E. Proteínas Ran.

32. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. El colágeno tiene una estructura de triple hélice y forma una superhélice diestra.
B. La prolina y la hidroxiprolina confieren rigidez al colágeno.
C. El colágeno contiene uno o más enlaces *O*-glucosídicos.
D. El colágeno carece de enlaces covalentes.
E. La deficiencia de vitamina C altera la acción de prolil y lisil hidroxilasas.

33. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. La elastina contiene hidroxiprolina, pero no hidroxilisina.
B. La elastina contiene enlaces covalentes formados por desmosinas.
C. Hasta ahora no se han identificado enfermedades genéticas debidas a anormalidades de la elastina.
D. A diferencia del colágeno, sólo hay un gen que codifica para elastina.
E. La elastina no contiene moléculas de azúcar.

34. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. El síndrome de Marfan se debe a mutaciones en el gen que codifica para la fibrilina-1, un componente importante de las microfibrillas.
B. Todos los subtipos de síndrome de Ehlers-Danlos se deben a mutaciones que afectan los genes que codifican para los diversos tipos de colágeno.
C. La laminina se encuentra en glomérulos renales junto con entactina, colágeno tipo IV, y heparina o heparán sulfato.
D. Las mutaciones que afectan el colágeno tipo IV pueden causar enfermedad renal grave.
E. Las mutaciones en el gen *1A1* del colágeno pueden causar osteogénesis imperfecta.

35. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es FALSA:
A. Casi todos los GAG, mas no todos, contienen un amino azúcar y un ácido urónico.
B. Todos los GAG están sulfatados.
C. Los GAG son construidos por las acciones de glucosiltransferasas usando azúcares donados por nucleótido-azúcares.
D. El ácido glucurónico puede ser convertido en ácido idurónico por una epimerasa.
E. El proteoglucano agrecano contiene ácido hialurónico, queratán sulfato y condroitín sulfato.

36. Un lactante del sexo masculino presenta crecimiento y desarrollo insuficientes y, en el examen, se nota que tiene hepatomegalia y esplenomegalia, entre otros datos. El examen general de orina revela la presencia tanto de dermatán sulfato como de heparán sulfato. Usted sospecha que el paciente tiene síndrome de Hurler. A partir de la lista que sigue, seleccione la enzima que desearía que se evalúe para apoyar su diagnóstico:
A. β-Glucuronidasa.
B. β-Galactosidasa.
C. α-L-Iduronidasa.
D. α-L-Acetilglucosaminidasa.
E. Neuraminidasa.

37. Usted atiende a un niño en la clínica que está bastante por debajo del peso promedio. Nota que el niño tiene extremidades cortas, tamaño del tronco normal, macrocefalia y varias otras anormalidades esqueléticas. Sospecha que el niño tiene acondroplasia. A partir de la lista que sigue, seleccione la prueba que confirmaría mejor su diagnóstico:
A. Medición de la hormona de crecimiento.
B. Valoraciones para enzimas involucradas en el metabolismo de GAG.
C. Pruebas para mucopolisacáridos urinarios.
D. Pruebas de gen para anormalidades del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 3 (FGFR3).
E. Pruebas de gen para anormalidades de la hormona de crecimiento.

SECCIÓN XI

Temas especiales (C)

CAPÍTULO 55

Hemostasia y trombosis

Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C), Robert K. Murray, MD, PhD, P. Anthony Weil, PhD & Margaret L. Rand, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender la importancia de la hemostasia y la trombosis en la salud y enfermedad.
- Esbozar las vías de la coagulación que dan lugar a la formación de fibrina.
- Identificar los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K.
- Proporcionar ejemplos de trastornos genéticos que llevan a sangrado.
- Describir el proceso de la fibrinólisis.
- Esbozar los pasos que llevan a la agregación plaquetaria.
- Identificar los fármacos antiplaquetarios y su modo de inhibición de la agregación plaquetaria.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se describen los aspectos básicos de las proteínas del sistema de coagulación de la sangre y de la fibrinólisis. También se presentan algunos aspectos fundamentales de las características biológicas de las plaquetas. Los estados hemorrágicos y trombóticos pueden causar serias urgencias médicas, de hecho, las trombosis en las arterias coronarias y cerebrales son causas importantes de muerte en muchas partes del mundo. El manejo racional de estas enfermedades requiere un entendimiento claro de las bases de la coagulación de la sangre, la fibrinólisis y la agregación plaquetaria.

LA HEMOSTASIA Y LA TROMBOSIS TIENEN TRES FASES EN COMÚN

La hemostasia es el cese de la hemorragia por un vaso cortado o roto, mientras que la **trombosis** ocurre cuando el endotelio que reviste a los vasos sanguíneos se daña o elimina (p. ej., en el momento de la rotura de una placa aterosclerótica). Estos procesos comprenden vasos sanguíneos, agregación plaquetaria y proteínas plasmáticas que causan la formación o disolución de agregados plaquetarios y fibrina.

En la hemostasia hay vasoconstricción inicial del vaso lesionado, lo que causa flujo sanguíneo disminuido en posición distal a la lesión. Entonces la hemostasia y la trombosis comparten **tres fases**:

1. Formación de un **agregado plaquetario** laxo y temporal en el sitio de la lesión. Las plaquetas se unen al colágeno en el sitio de la lesión de la pared del vaso, y forman tromboxano A_2 y liberan ADP, que activa otras plaquetas que fluyen en la vecindad de la lesión. (El mecanismo de activación plaquetaria se describe más adelante.) La trombina, que se forma durante coagulación en el mismo sitio, causa más activación plaquetaria. En el momento de la activación, las plaquetas cambian de forma y, en presencia de fibrinógeno, y/o del factor de Von Willebrand, se agregan para formar el tapón hemostático (en la hemostasia) o un trombo (en la trombosis).
2. Formación de una **red de fibrina** que se une al agregado plaquetario y forma un tapón hemostático más estable o trombo.
3. **Disolución** parcial o completa del tapón hemostático o trombo por la plasmina.

Hay tres tipos de trombos

Se distinguen tres tipos de trombos o coágulos. Los tres contienen **fibrina** en diversas proporciones.

1. El **trombo blanco** está compuesto de plaquetas y fibrina, y tiene contenido relativamente bajo de eritrocitos. Se forma en el sitio de una lesión o pared de vaso anormal, particularmente en áreas donde el flujo sanguíneo es rápido (arterias).
2. El **trombo rojo** consta principalmente de eritrocitos y fibrina. Semeja desde el punto de vista morfológico el coágulo formado en un tubo de ensayo y puede formarse *in vivo* en áreas de flujo sanguíneo retardado o estasis (p. ej., venas) con lesión vascular o sin ella, o en un sitio de lesión o en un vaso anormal conjuntamente con un tapón plaquetario iniciador.
3. Un tercer tipo es un **depósito de fibrina** diseminado en vasos sanguíneos de calibre muy pequeño o capilares.

Primero se describirá la vía de la coagulación que lleva a la formación de fibrina. Después se describen brevemente algunos aspectos de la participación de las plaquetas y de las paredes de los vasos sanguíneos en el proceso general. Esta separación de factores de la coagulación y plaquetas es artificial, puesto que ambos desempeñan funciones íntimas y a menudo interdependientes en la hemostasia y la trombosis, pero facilita la descripción de los procesos generales involucrados.

Las vías tanto extrínseca como intrínseca dan por resultado la formación de fibrina

Dos vías llevan a la formación de **coágulo de fibrina**: las vías **extrínseca** e **intrínseca**, las cuales no son independientes como se creía; sin embargo, en el texto que sigue se retiene esta distinción artificial para facilitar su descripción.

El inicio de la formación del coágulo de fibrina en respuesta a **lesión de tejido** se lleva a cabo mediante la **vía extrínseca**. La **vía intrínseca** es activada por superficies con carga negativa *in vitro*, por ejemplo, vidrio. Ambas vías llevan a la conversión proteolítica de **protrombina hacia trombina.** La trombina cataliza la división de **fibrinógeno** para iniciar la formación del coágulo de **fibrina**. Las vías extrínseca e intrínseca son complejas y comprenden muchas proteínas diferentes (**figuras 55-1** y **55-2**; **cuadro 55-1**). Los factores de la coagulación son otro ejemplo de proteínas multidominio que comparten dominios conservados (figura 5-9). En general, estas proteínas pueden clasificarse en **cinco tipos**: 1) zimógenos de proteasas dependientes de serina que son activados durante el proceso de coagulación; 2) cofactores; 3) fibrinógeno; 4) una transglutaminasa que forma enlaces covalentes con la fibrina y estabiliza el coágulo de fibrina, y 5) proteínas reguladoras y de otros tipos (**cuadro 55-2**).

La vía extrínseca lleva a activación del factor X

La **vía extrínseca** comprende el factor tisular, los factores VII y X, y Ca^{2+}, y da por resultado la producción de factor Xa (por convención, el sufijo "a" indica factores de la coagulación activados). La vía extrínseca inicia en el sitio de **lesión de tejido** con la exposición de **factor tisular** (**TF**; figura 55-1), ubicado en el subendotelio y sobre monocitos activados. El TF interactúa con, y activa, el **factor VII** (53 kDa, un zimógeno que contiene

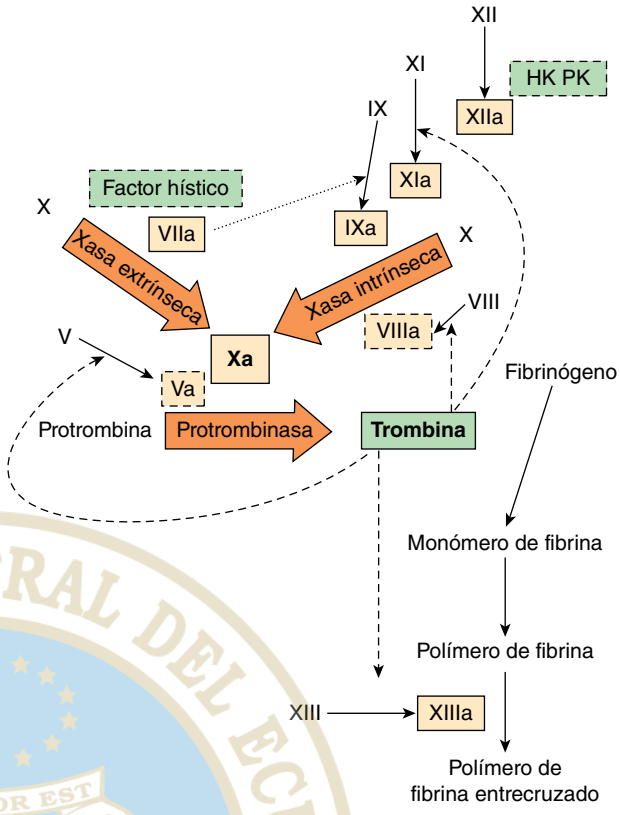


FIGURA 55-1 Las vías de la coagulación de la sangre; la vía extrínseca está indicada en la parte superior izquierda, y la intrínseca, en la superior derecha. Las vías convergen en la formación del factor Xa y culminan con la formación de fibrina con enlaces cruzados. Los complejos de factor histico y factor VIIa activan no sólo al factor X (Xasa extrínseca [tenasa]), sino también al factor IX en la vía intrínseca (flecha punteada). Además, la retroalimentación por trombina activa en los sitios indicados (flechas discontinuas) y también activa el factor VII a VIIa (que no se muestra). Los tres complejos predominantes, la Xasa extrínseca, la Xasa intrínseca y la protrombinasa, están indicados en las flechas; las reacciones requieren procoagulante aniónico fosfolípido de membrana y calcio. Las proteasas activadas aparecen en cuadros con contorno continuo; los cofactores activos están en cuadros con contorno discontinuo, y los factores inactivos no están en cuadros. (PK, precalicreína; HK, cininógeno de alto peso molecular, HMW).

residuos γ-carboxiglutamato [Gla] dependientes de vitamina K; capítulo 44), sintetizado en el hígado. Cabe hacer notar que en los zimógenos que contienen Gla (factores II, VII, IX y X), los residuos Gla en las regiones amino terminal de las moléculas sirven como sitios de unión de alta afinidad para el Ca^{2+}. El TF actúa como un cofactor para el **factor VIIa**; aumenta su actividad enzimática para activar el **factor X** (56 kDa). La reacción mediante la cual el **factor X** es activado requiere el montaje del **complejo de tenasa extrínseco (Ca^{2+}-TF-factor VIIa)** formado sobre una superficie de membrana celular que expone el aminofosfolípido aniónico procoagulante fosfatidilserina. El factor VIIa divide un enlace Arg-Ile en el factor X para producir la serina proteasa de dos cadenas, el **factor Xa**. El TF y el factor VIIa también activan el factor IX en la vía intrínseca. De hecho, **ahora se considera que la formación de complejos entre TF unido a membrana y factor VIIa es el proceso clave involucrado en el inicio de la coagulación de la sangre *in vivo***.

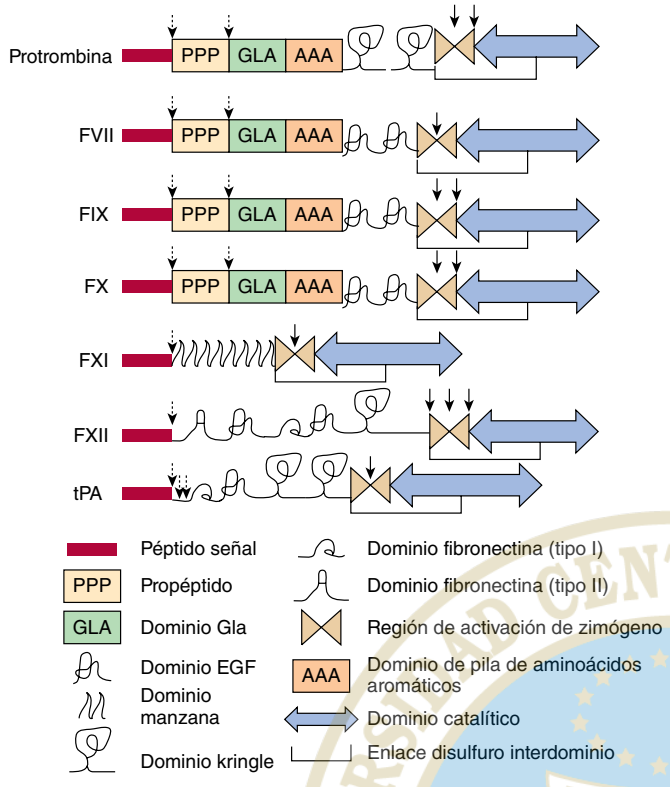


FIGURA 55-2 Los dominios estructurales de proteínas seleccionadas involucradas en la coagulación y la fibrinólisis. Los dominios son como se identifica en la parte inferior de la figura e incluyen péptido señal, propéptido, dominio de Gla (γ-carboxiglutamato), dominio de factor de crecimiento epidérmico (EGF), dominio manzana, dominio kringle, dominio de fibronectina (tipos I y II), la región de activación de zimógeno, pila de aminoácido aromático y el dominio catalítico. Los enlaces disulfuro interdominio están indicados, no así muchos enlaces disulfuro intradominio. Los sitios de división proteolítica en la síntesis o activación están indicados por flechas (discontinuas y continuas, respectivamente). FVII, factor VII; FIX, factor IX; FX, factor X, FXI; factor XI; FXII, factor XII; tPA, activador del plasminógeno hístico. (Adaptado, con autorización, de Furie B, Furie BC: The molecular basis of blood coagulation. Cell 1988;53:505).

El **inhibidor de la vía del factor hístico (TFPI)** es un importante inhibidor fisiológico de la coagulación. Es una proteína que circula en la sangre donde inhibe de manera directa el factor Xa al unirse a la enzima cerca de su sitio activo; este complejo de factor Xa-TFPI a continuación inhibe el complejo del factor VIIa-factor hístico.

La vía del factor intrínseco también lleva a la activación del factor X

La activación del **factor Xa** es el principal sitio donde convergen las vías intrínseca y extrínseca (figura 55-1). La **vía intrínseca** (figura 55-1) comprende los factores XII, XI, IX, VIII y X, así como precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMW), Ca^{2+} y fosfatidilserina expuesta en la superficie celular, esta vía resulta en la producción de **factor Xa** por el complejo intrínseco de tenasa (véase más adelante), en la cual el factor IXa actúa como la serina proteasa y el factor VIIIa como el cofactor. La activación del **factor X proporciona un importante enlace entre las vías intrínseca y extrínseca**.

CUADRO 55-1 Sistema numérico para la nomenclatura de factores de la coagulación de la sangre

Factor	Nombre común	
I	Fibrinógeno	Estos factores por lo general se denominan por sus nombres comunes
II	Protrombina	
III	Factor hístico	
IV	Ca^{2+}	Por lo general no se hace referencia a al Ca^{2+} como factor de la coagulación
V	Proacelerina, factor lábil, globulina aceleradora (Ac-)	
VII[a]	Proconvertina, acelerador de la conversión de protrombina sérica (SPCA), cotromboplastina	
VIII	Factor antihemofílico A, globulina antihemofílica (AHG)	
IX	Factor antihemofílico B, factor Christmas, componente de tromboplastina plasmática (PTC)	
X	Factor Stuart-Prower	
XI	Antecedente de tromboplastina plasmática (PTA)	
XII	Factor Hageman	
XIII	Factor estabilizante de la fibrina (FSF), fibrinoligasa	

[a] No hay factor VI.
Nota: Los números indican el orden en el cual se han descubierto los factores y no se relacionan con el orden en el cual actúan.

La **vía intrínseca** puede iniciarse por "contacto" en el cual la precalicreína, el cininógeno HMW, el factor XII, y el factor XI quedan expuestos a una superficie activadora que tiene carga negativa. *In vivo*, los polímeros de fosfatos, como el DNA, RNA y polifosfato extracelulares (macromoléculas disponibles sólo después de daño celular) pueden servir como esta superficie activadora que tiene carga negativa. El caolín, un silicato de aluminio hidratado que tiene carga altamente negativa, puede usarse para pruebas *in vitro* como un iniciador de la vía intrínseca. Cuando los componentes de la fase de contacto se montan sobre la superficie activadora, el factor XII se activa hacia **factor XIIa** en el momento de la proteólisis por calicreína. Este factor XIIa, generado por la calicreína, ataca la precalicreína para generar más calicreína, lo que establece una activación recíproca. El factor XIIa, una vez formado, activa al **factor XI** hacia **XIa** y libera también **bradicinina** (un péptido con potente acción vasodilatadora) del cininógeno de HMW.

En presencia de Ca^{2+} activa al factor IX (55 kDa, un zimógeno que contiene Gla), hacia la serina proteasa, el **factor IXa**; esto, a su vez, también divide un enlace Arg-Ile en el factor X para producir **factor Xa**. Esta última reacción requiere el montaje de componentes, llamados el complejo de tenasa intrínseco, **compuesto de Ca^{2+}-factor VIIIa-factor X**, que se forma sobre la superficie de membrana de plaquetas activadas para exponer fosfatidilserina procoagulante. (Note que en circunstancias normales este fosfolípido está sobre el lado interno de la membrana plasmática de plaquetas en reposo, no activadas).

El **factor VIII** (330 kDa), una glucoproteína circulante, no es un precursor de proteasa sino un cofactor que sirve como un

CUADRO 55-2 Las funciones de las proteínas involucradas en la coagulación de la sangre

Zimógenos de serina proteasas	
Factor XII	Se une a superficie con carga negativa, por ejemplo caolín, vidrio; es activado por cininógeno de alto peso molecular, HMW y calicreína
Factor XI	Activado por el factor XIIa
Factor IX	Activado por el factor XIa y factor VIIa
Factor VII	Activado por el factor VIIa, factor Xa y trombina
Factor X	Activado sobre la superficie de plaquetas activadas por complejo de tenasa (Ca^{2+}, factores VIIIa y IXa) y por el factor VIIa en presencia de factor hístico y Ca^{2+}, factor hístico y factor VIIa)
Protombina Factor II	Activado sobre la superficie de plaquetas activadas por el complejo de protrombinasa (Ca^{2+}, factores Va y Xa) (los factores II, VII, IX y X son zimógenos que contienen Gla) (Gla = γ-carboxiglutamato)
Cofactores	
Factor VIII	Activado por trombina; el factor VIIIa es un cofactor en la activación de factor X por el factor IXa
Factor V	Activado por trombina; el factor Va es un cofactor en la activación de protrombina por el factor Xa
Factor hístico (factor III)	Una glucoproteína localizada en el subendotelio y expresada sobre monocitos estimulados para actuar como un cofactor para el factor VIIa
Fibrinógeno	
Factor I	Dividido por la trombina para formar coágulo de fibrina
Transglutaminasa dependiente de tiol	
Factor XIII	Activado por la trombina; estabiliza el coágulo de fibrina mediante enlaces cruzados covalentes
Proteínas reguladoras y de otros tipos	
Proteína C	Activado hacia proteína C (APC) por la trombina unida a trombomodulina; después degrada los factores VIIIa y Va
Proteína S	Actúa como un cofactor de la proteína C; ambas proteínas contienen residuos Gla (γ-carboxiglutamato)
Trombomodulina	Proteína sobre la superficie de células endoteliales; se une a trombina, que después activa a la proteína C

receptor para los factores IXa y X sobre la superficie plaquetaria. El factor VIII es activado por cantidades diminutas de trombina para **formar factor VIIIa** que, a su vez, se inactiva en el momento de división adicional por trombina.

La función de los **pasos iniciales de la vía intrínseca** en el inicio de la coagulación se ha cuestionado, porque los pacientes que tienen una deficiencia hereditaria del factor XII, precalicreína o cininógeno de HMW no muestran problemas hemorrágicos. De modo similar, los pacientes con una deficiencia del factor XI pueden no tener problemas hemorrágicos. En modelos de trombosis experimentales, las deficiencias en la vía intrínseca son protectoras contra trombosis. La vía intrínseca sirve en su mayor parte para **amplificar el factor Xa** y finalmente la **formación de trombina**, por medio de mecanismos de retroalimentación (véase más adelante). La vía intrínseca también puede tener importancia en la **fibrinólisis** (véase más adelante), puesto que la calicreína, el factor XIIa y el factor XIa pueden dividir el plasminógeno, y la calicreína puede activar la urocinasa de cadena única.

El factor Xa lleva a la activación de protrombina hacia trombina

El **factor Xa,** producido mediante la vía extrínseca o la intrínseca, activa a la **protrombina** (factor II) hacia **trombina** (factor IIa) (figura 55-1).

La activación de la protrombina, al igual que la del factor X, ocurre sobre una superficie de membrana, y requiere el montaje de un **complejo de protrombinasa**, que consta de Ca^{2+}, factor Va y factor Xa. El montaje del complejo de protrombinasa, al igual que el de complejo de tenasa, tiene lugar sobre la superficie de membrana de plaquetas activadas que expone fosfatidilserina.

El **factor V** (330 kDa) se sintetiza en el hígado, el bazo y los riñones, y se encuentra en plaquetas, así como en el plasma; funciona como un cofactor de una manera similar a la del factor VIII en el complejo de tenasa. Cuando se activa hacia **factor Va** por trazas de trombina, se une de manera específica a la membrana plaquetaria (**figura 55-3**) y forma un complejo con factor Xa y protrombina. Después se desactiva mediante proteína C (ver abajo), lo que proporciona un medio de limitar la activación de protrombina hacia trombina. La **protrombina** (72 kDa; figura 55-3) es una glucoproteína de cadena única sintetizada en el hígado. La región amino terminal de la protrombina (figura 55-2) contiene 10 residuos Gla y el sitio de proteasa activa dependiente de serina está en el dominio catalítico cerca de la región carboxilo terminal de la molécula. En el momento de unión al complejo de factores Va y Xa sobre la membrana plaquetaria (figura 55-3), el factor Xa divide la protrombina en dos sitios

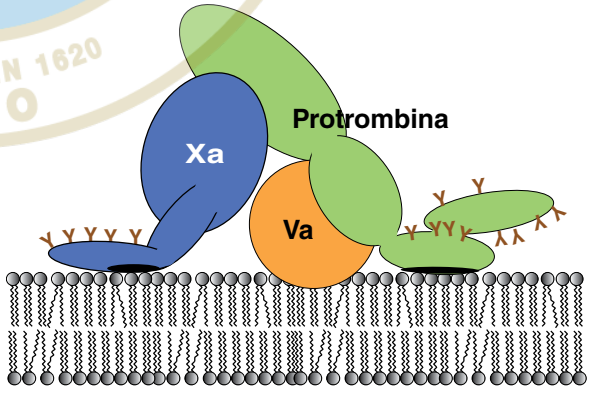
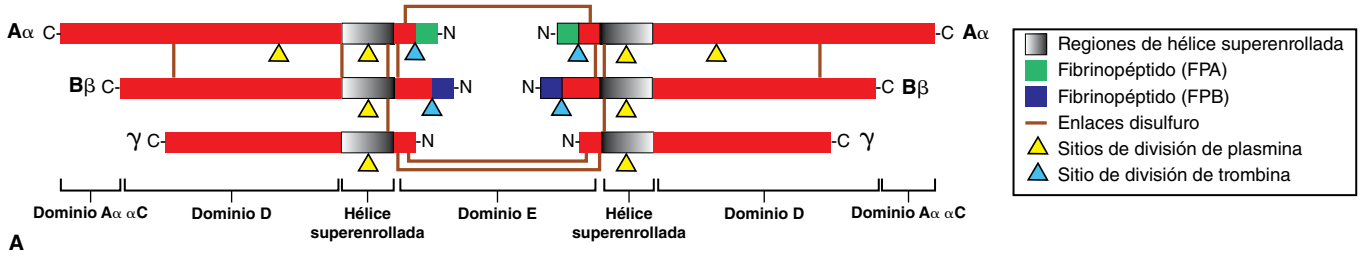


FIGURA 55-3 Esquema del complejo de protrombinasa unido a la membrana plasmática de la plaqueta activada. El complejo de protrombinasa contiene factores Va, Xa y protrombina. Un tema fundamental en la coagulación de la sangre es el montaje de complejos de proteína, esto es, los complejos de tenasa y el complejo de protrombinasa, sobre superficies de membrana sobre las cuales la fosfatidilserina es expuesta de una manera dependiente de Ca^{2+}. Los complejos unidos a membrana aumentan muchos órdenes de magnitud la eficiencia catalítica de la activación de zimógeno. Residuos de γ-carboxiglutamato (indicados por **Y**) sobre proteínas dependientes de vitamina K se unen al calcio y contribuyen a la exposición de sitios de unión a membrana sobre estas proteínas (óvalos negros, Xa y protrombinasa)



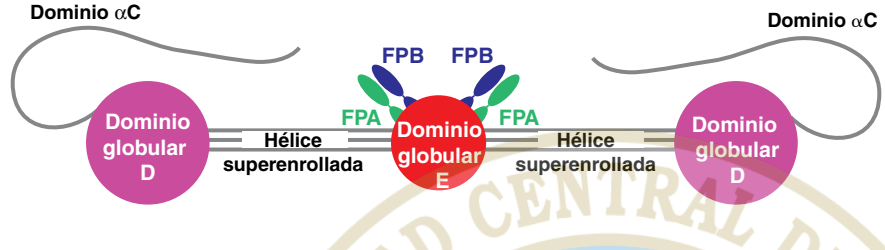


FIGURA 55-4 **Representación diagramática del fibrinógeno. (A)** El fibrinógeno es una molécula dimérica; cada mitad está compuesta de tres cadenas polipeptídicas: **A**α, **B**β y γ. Enlaces disulfuro unen entre sí las cadenas y las dos mitades de la molécula. **(B)** El fibrinógeno forma una estructura trinodular con un dominio central E enlazado por medio de regiones de hélice superenrollada a dos dominios D laterales, cada uno de los cuales contiene una cadena Aα dominio αC flexible. Los péptidos reguladores divididos por trombina, fibrinopéptido A (FPA) y fibrinopéptido B (FPB) residen dentro del nódulo E como se muestra. (Figura modificada de Weitz JI: Overview of hemostasis and thrombosis. In: Hoffman R, Benz EJ Jr, Silberstein LR, *et al* [editors]: *Hematology: Basic Principals and Practice*, 6th ed. Elsevier Saunders, 2013:1779).

para generar la molécula de trombina de dos cadenas, activa, que a continuación se libera desde la superficie plaquetaria.

La conversión de fibrinógeno en fibrina es catalizada por la trombina

La **trombina**, producida por el complejo de protrombinasa, además de tener un potente efecto estimulador sobre las plaquetas (véase más adelante), **convierte el fibrinógeno en fibrina** (figura 55-1). El **fibrinógeno** (factor I, 340 kDa; figuras 55-1 y 55-4; cuadros 55-1 y 55-2) es una abundante (3mg/mL) glucoproteína plasmática soluble que consta de tres pares no idénticos de cadenas polipeptídicas (**A**α,**B**β,γ)$_2$ que son enlazadas de manera covalente por 29 enlaces disulfuro. Las cadenas Bβ y γ contienen oligosacáridos complejos enlazados a asparagina (capítulo 46). Las tres cadenas se sintetizan en el hígado; los tres genes están en el mismo cromosoma, y su expresión está regulada de manera coordinada en humanos. Las regiones amino terminal de las seis cadenas son mantenidas en estrecha proximidad por varios enlaces disulfuro (en la figura 55-4 se muestra un subgrupo), mientras que las regiones carboxilo terminal son separadas. De este modo, la molécula de fibrinógeno tiene una estructura alargada, trinodular, con un dominio E central que está enlazado a dominios D laterales por medio de regiones de hélice superenrollada (**figuras 55-4** y **55-5A**). Las porciones **A** y **B N terminal** de las cadenas Aα y Bβ se denominan **fibrinopéptido A (FPA)** y **fibrinopéptido B (FPB)**, respectivamente; estos dominios tienen carga altamente negativa como resultado de una abundancia de residuos de aspartato y glutamato (véase más adelante). Las cargas negativas contribuyen a la solubilidad del fibrinógeno en el plasma y, lo que es importante, sirven también para evitar agregación al causar repulsión electrostática entre moléculas de fibrinógeno.

La **trombina** (34 kDa), la serina proteasa formada por el complejo de protrombinasa, hidroliza los cuatro enlaces Arg-Gli entre los fibrinopéptidos *N*-terminales y las porciones α y β de las cadenas **A**α y **B**β del fibrinógeno (figura 55-5A, B). La liberación de FPA y FPB por la trombina genera **monómero de fibrina,** que tiene la estructura de subunidad (α, β, γ)$_2$. Puesto que el FPA y el FPB sólo contienen 16 y 14 residuos, respectivamente, la molécula de fibrina retiene 98% de los residuos presentes en el fibrinógeno. La eliminación de los fibrinopéptidos expone sitios de unión dentro del dominio E de monómeros de fibrina que interactúan específicamente con dominios complementarios dentro de los dominios D de otros monómeros de fibrina. De esta manera, los monómeros de fibrina se polimerizan espontáneamente en un patrón medio-escalonado para formar cadenas largas (protofibrillas) (figura 55-5A). Si bien es insoluble, este coágulo de fibrina inicial es inestable, y se mantiene junto sólo por la asociación covalente de monómeros de fibrina.

Además de convertir el fibrinógeno en fibrina, la trombina también convierte el **factor XIII en factor XIIIa**. Este último es una **transglutaminasa** altamente específica que forma enlaces covalentes de cadenas γ y, de manera más lenta, cadenas α de moléculas de fibrina al formar enlaces peptídicos entre los grupos amida de la glutamina y los grupos ε-amino de residuos de lisina (figura 51-5C), lo que produce un coágulo de fibrina más estable con resistencia aumentada a la proteólisis. Esta red de fibrina sirve para estabilizar el tapón hemostático o trombo.

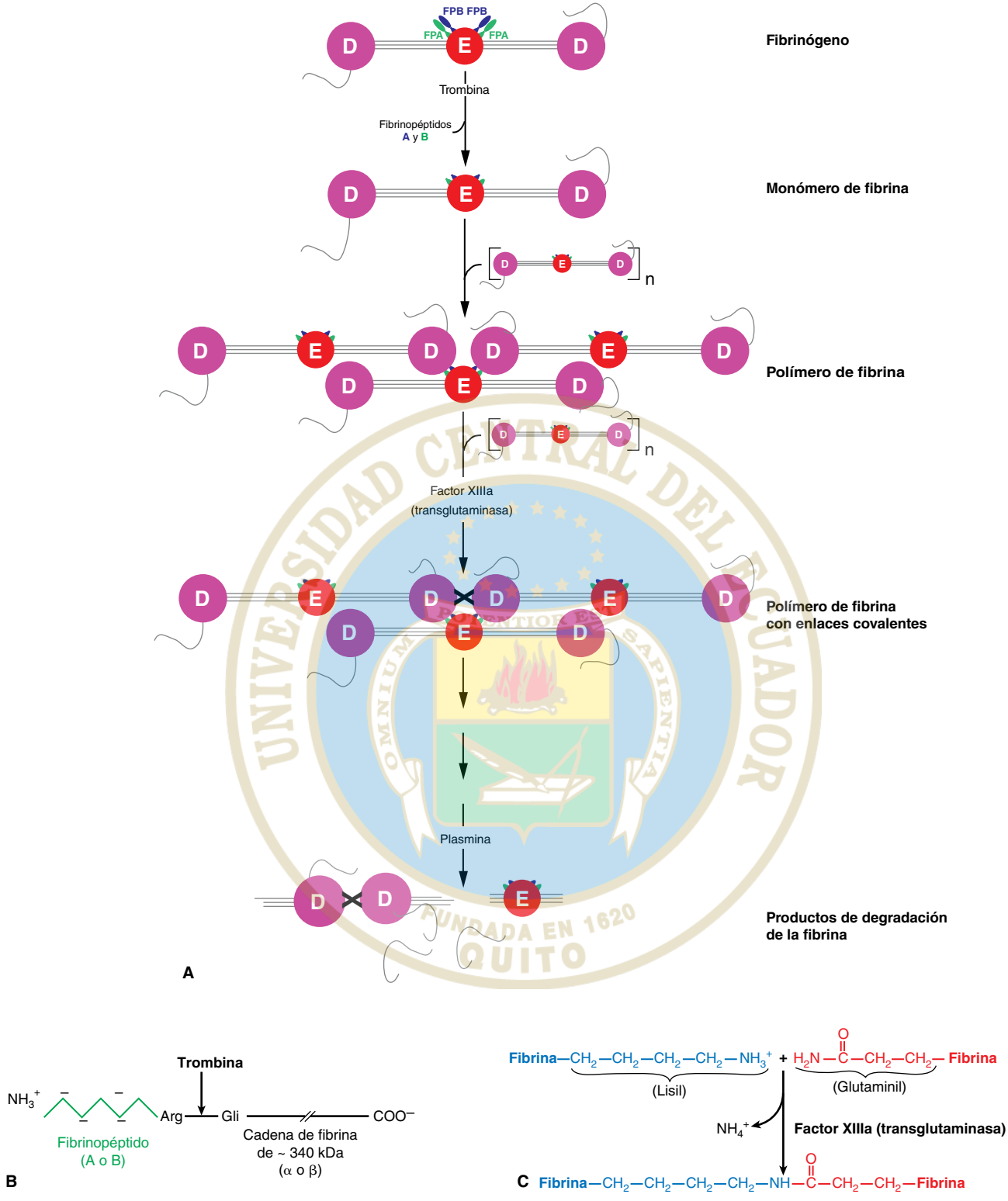


FIGURA 55-5 **Polimerización y degradación de fibrina. (A)** La formación de monómero de fibrina por medio de división del fibrinopéptido A (FPA) y fibrinopéptido B (FPB) desde el fibrinógeno por la trombina; la polimerización espontánea de monómeros de fibrina a dímeros y oligómeros superiores: seguida por la estabilización de oligómeros de fibrina por formación de enlaces covalentes (mediada por el factor XIIIa) de monómeros de fibrina adyacentes. Por último (abajo) se ilustra la degradación de polímeros de fibrina hacia productos de degradación solubles por digestión por plasmina, que lleva a disolución del coágulo. (Figura modificada de Weitz JI: Overview of hemostasis and thrombosis. In Hoffman R, Benz Jr EJ, Silberstein LR, *et al* (editors): *Hematology: Basic Principals and Practice*, 6th ed. Elsevier Saunders, 2013, pp. 1779). **(B)** Sitio de división de trombina de las cadenas **A**α y **B**β del fibrinógeno para dar **FPA/FPB** (izquierda; verde) y las cadenas α y β del monómero de fibrina (derecha; negro). **C)** Esquema de la formación de enlaces covalentes de moléculas de fibrina, mediada por el factor XIIIa (transglutaminasa). (Figura modificada de Weitz JI: Overview of hemostasis and thrombosis. In: Hoffman R, Benz EJ Jr, Silberstein LR, *et al* (editors): Hematology: Basic Principles and Practice, 6th ed. Elsevier Saunders, 2013:1779).

Las concentraciones de trombina circulantes se controlan con sumo cuidado

Una vez que se forma trombina activa en el transcurso de hemostasia o trombosis, su concentración se debe controlar con sumo cuidado para prevenir formación de fibrina o activación de plaquetas adicional; esto se logra de **dos maneras**. La trombina circula como su precursor inactivo, protrombina, que se activa como resultado de una cascada de reacciones enzimáticas, cada una de las cuales convierte un zimógeno inactivo en una enzima activa y lleva finalmente a la conversión de protrombina en trombina (figura 55-1). En cada punto en la cascada, **mecanismos de retroalimentación** producen un delicado equilibrio de activación e inhibición. La concentración de factor XII en el plasma es de aproximadamente 30 ug/mL, mientras que la de fibrinógeno es de 3 mg/mL; la concentración de los factores de la coagulación intermedios aumenta a medida que se procede por la cascada, lo que muestra que la cascada de coagulación proporciona **amplificación**. El segundo medio de controlar la actividad de trombina es la **desactivación de cualquier trombina** formada por **inhibidores circulantes**, el más importante de los cuales es la antitrombina (véase más adelante).

La heparina aumenta la actividad de la antitrombina, un inhibidor de la trombina

En el plasma normal hay **cuatro inhibidores de trombina** naturales. El más importante es la **antitrombina**, que contribuye con aproximadamente 75% de la actividad antitrombina. La antitrombina también puede inhibir las actividades de los factores IXa, Xa, XIa, XIIa y VIIa que forman complejos con el factor hístico. La **α_2-macroglobulina** contribuye con la mayor parte del resto de la actividad antitrombina; el **cofactor II heparina** y la **α_1-antitripsina** actúan como inhibidores menores en condiciones fisiológicas.

La presencia de glucosaminoglucanos sulfatados (heparanos) potencia mucho la actividad endógena de la antitrombina (capítulo 48). Los heparanos se unen a un sitio catiónico específico de la antitrombina, lo que induce un cambio conformacional y promueve la unión de antitrombina a trombina, así como a sus otros sustratos. Ese mecanismo es la base para el uso de la **heparina**, un heparán derivatizado, en medicina clínica para inhibir la coagulación. Los efectos anticoagulantes de la heparina pueden antagonizarse por medio de polipéptidos fuertemente catiónicos como la **protamina**, que se une fuertemente a la heparina, lo que, de este modo, inhibe su unión a la antitrombina.

Las **heparinas de bajo peso molecular (LMWH)**, derivadas de la división enzimática o química de heparina no fraccionada, están encontrando uso clínico cada vez mayor. Pueden administrarse por vía subcutánea en el hogar, tienen mayor biodisponibilidad que la heparina no fraccionada y no necesitan vigilancia frecuente de laboratorio.

Los individuos con **deficiencias hereditarias de antitrombina** están propensos a trombosis venosa, lo que proporciona evidencia de que la antitrombina tiene una función fisiológica y de que el sistema de coagulación en humanos normalmente se encuentra en un estado dinámico.

La **trombina** participa en otro mecanismo regulador que opera en la coagulación. Se combina con la **trombomodulina**, una glucoproteína presente sobre las superficies de células endoteliales. El complejo activa a la **proteína C** sobre el **receptor de proteína C endotelial**. En combinación con la **proteína S**, la proteína C activada (APC) degrada los factores Va y VIIIa, lo que limita sus acciones en la coagulación. Una deficiencia genética de proteína C o S puede causar trombosis venosa. Además, los pacientes con **factor V Leiden** (que tiene un residuo glutamina en lugar de arginina en la posición 506) tienen riesgo aumentado de enfermedad trombótica venosa porque el factor V Leiden es resistente a la desactivación por APC.

Los anticoagulantes cumarina inhiben la carboxilación de los factores II, VII, IX y X dependiente de vitamina K

Los **fármacos cumarina** (p. ej., warfarina), que se usan como anticoagulantes, inhiben la carboxilación, dependiente de vitamina K, de residuos Glu a Gla (capítulo 44) en las regiones amino terminal de los factores II, VII, IX y X, y en las proteínas C y S. Estas proteínas, todas las cuales se sintetizan en el hígado, son dependientes de las propiedades de unión a Ca^{2+} de los residuos Gla para su función normal en las vías de la coagulación. **Las cumarinas inhiben la reducción de los derivados quinona de la vitamina K hacia las formas hidroquinona activas** (capítulo 44). De este modo, la administración de vitamina K evitará la inhibición inducida por cumarina, y permitirá que ocurra la modificación postraduccional de la carboxilación. La **reversión** de la inhibición por cumarina mediante vitamina K requiere 12 a 24 horas, mientras que la reversión de los efectos anticoagulantes de la heparina mediante protamina es casi instantánea.

La **heparina** y la **warfarina** se usan ampliamente en el tratamiento de estados trombóticos y tromboembólicos, como trombosis venosa profunda y embolia pulmonar. La heparina se administra primero, debido a su inicio de acción expedito, mientras que la warfarina tarda varios días en alcanzar el efecto completo. Sus efectos se vigilan de manera estrecha mediante el uso de pruebas de coagulación apropiadas (véase más adelante) debido al riesgo de producir hemorragia.

Los **nuevos inhibidores orales** de la trombina (dabigatrán) o del factor Xa (rivaroxabán, apixabán y otros) también se usan en la prevención y el tratamiento de enfermedades trombóticas. Estos fármacos son ventajosos porque su efecto es predecible con base en la dosis y algunos no requieren vigilancia sistemática mediante análisis de laboratorio.

Hay varios trastornos hemorrágicos hereditarios, entre ellos la hemofilia A

En humanos se encuentran **deficiencias hereditarias** del sistema de la coagulación que dan lugar a sangrado. La deficiencia más común es la deficiencia del factor VIII, que causa **hemofilia A**, una enfermedad **enlazada al cromosoma X**. La **hemofilia B, también enlazada al cromosoma X**, se debe a deficiencia del factor IX, y recientemente se ha identificado como la forma de hemofilia que tuvo un papel importante en la historia de las familias reales de Europa. Las características clínicas de las hemofilias A y B son casi idénticas, pero estas dos enfermedades pueden distinguirse fácilmente con base en valoraciones específicas para los dos factores.

El gen que codifica para el factor VIII humano mide 186 kb de longitud y contiene 26 exones que codifican para una proteína de 2351 aminoácidos. Se han detectado diversas mutaciones en los genes que codifican para los factores VIII y IX, y llevan a actividades disminuidas de las proteínas factores VIII y IX; éstas incluyen deleciones parciales de gen y mutaciones puntuales y sin sentido. Ahora es posible el **diagnóstico prenatal** mediante análisis de DNA después de muestreo de vellosidades coriónicas (figura 39-9).

En el pasado, el tratamiento para pacientes con hemofilia A y B constaba de la administración de **crioprecipitados** (enriquecidos en factor VIII) preparados a partir de donadores individuales o **concentrados** de factor VIII o IX liofilizado preparado a partir de fondos comunes de plasma muy grandes. Ahora es posible preparar factores VIII y IX por medio de **tecnología de DNA recombinante** (capítulo 39). Esas preparaciones están libres de virus contaminantes (p. ej., de hepatitis A, B, C, o HIV-1) que se encuentran en el plasma de humanos, pero son costosas; su uso puede aumentar si el costo de producción disminuye.

El trastorno hemorragíparo hereditario más frecuente es la **enfermedad de Von Willebrand**, con una prevalencia de hasta 1% de la población. Se produce por una deficiencia o un defecto del **factor de Von Willebrand**, glucoproteína multimérica grande que se secreta por las células endoteliales y las plaquetas hacia el plasma, donde estabiliza el factor VIII. El factor de Von Willebrand también promueve la adherencia de plaquetas en el sitio de lesión de la pared del vaso (véase más adelante).

La plasmina disuelve coágulos de fibrina

Como se mencionó, el sistema de coagulación normalmente se encuentra en un estado de equilibrio dinámico en el cual de modo constante se están depositando y disolviendo coágulos de fibrina. Este último proceso se llama **fibrinólisis**. La **plasmina**, la serina proteasa que se encarga principalmente de degradar fibrina y fibrinógeno, circula en forma de su zimógeno inactivo, el **plasminógeno** (90 kDa), y cualquier cantidad pequeña de plasmina que se forma en la fase líquida en condiciones fisiológicas se desactiva con rapidez por el inhibidor de plasmina de acción rápida, α_2-antiplasmina. El plasminógeno se une a la fibrina y, así, queda incorporado en coágulos a medida que se producen; puesto que la plasmina que se forma cuando está unida a fibrina, está protegida contra la α_2-antiplasmina, permanece activa. Los **activadores del plasminógeno** de diversos tipos se encuentran en casi todos los tejidos del cuerpo, y todos dividen el mismo enlace Arg-Val en el plasminógeno para producir la serina proteasa de dos cadenas, plasmina (**figura 55-6**). La **especificidad de la plasmina para la fibrina** es otro mecanismo que regula la fibrinólisis. Por medio de uno de sus dominios kringle o en rosquilla, la plasmina(ógeno) se une de manera específica a residuos lisina en la fibrina y, así, se incorpora cada vez más hacia la red de fibrina a medida que la divide. (Los dominios kringle [figura 55-2] son motivos de proteína comunes de alrededor de 100 residuos aminoácido de longitud, que tienen una estructura covalente característica definida por un modelo de tres enlaces disulfuro.) De este modo, la carboxipeptidasa **TAFIa (inhibidor de fibrinólisis activable por trombina activada)** (figura 55-6), que elimina lisinas terminales de la fibrina, también puede inhibir la fibrinólisis.

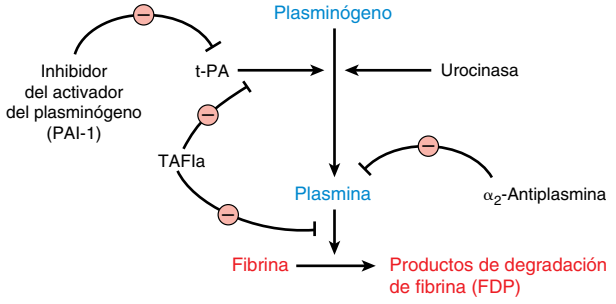


FIGURA 55-6 Inicio de la fibrinólisis mediante la activación de plasmina. Esquema de sitios de acción de activador del plasminógeno hístico (t-PA), urocinasa, inhibidor del activador del plasminógeno, α2-antiplasmina e inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFIa).

La trombina activa el TAFI hacia TAFIa, lo que inhibe la fibrinólisis durante la formación de coágulo.

El **activador del plasminógeno hístico (t-PA)** (figuras 55-2 y 55-6) es una serina proteasa que se libera hacia la circulación desde el endotelio vascular en condiciones de lesión o estrés, y es inactivo desde el punto de vista catalítico a menos que esté unido a fibrina. En el momento de la unión a fibrina, el t-PA divide el plasminógeno dentro del coágulo para generar plasmina que, a su vez, digiere la fibrina para formar productos de degradación solubles y, así, disuelve el coágulo. Ni la plasmina ni el activador del plasminógeno pueden permanecer unidos a estos productos de degradación y, así, se liberan hacia la fase líquida, donde sus inhibidores naturales los desactivan. La prourocinasa es el precursor de un segundo activador del plasminógeno, la **urocinasa**. Originalmente aislada a partir de la orina, ahora se sabe que se sintetiza en muchos tipos de células, como monocitos y macrófagos, fibroblastos, y células epiteliales. Su principal acción quizás es la degradación de la matriz extracelular. En la figura 55-6 se indican los sitios de acción de cinco proteínas que influyen sobre la formación y acción de la plasmina.

El t-PA recombinante y la estreptocinasa se usan como disolventes de coágulo

El t-PA, comercializado como **Alteplase**, se produce por medio de métodos de DNA recombinante. Se usa con fines terapéuticos como un agente fibrinolítico, al igual que la **estreptocinasa,** una enzima secretada por varias cepas de bacterias estreptocócica. Sin embargo, esta última es menos selectiva que el t-PA, al activar el plasminógeno en la fase líquida (donde puede degradar fibrinógeno circulante), así como plasminógeno unido a un coágulo de fibrina. La cantidad de plasmina producida mediante dosis terapéuticas de estreptocinasa puede exceder la capacidad de la α_2-antiplasmina circulante, lo que hace que el fibrinógeno, así como la fibrina, se degraden, y da por resultado el sangrado que suele encontrarse durante la terapia fibrinolítica. Debido a su **selectividad** relativa para degradar fibrina, el t-PA recombinante se ha usado ampliamente para restituir la permeabilidad de arterias coronarias después de trombosis. Si se administra en etapas lo bastante tempranas, antes de que ocurra daño irreversible del músculo cardíaco (alrededor de 6 horas después del inicio de la trombosis), el t-PA puede reducir de manera importante la mortalidad por daño miocárdico después de trombosis coronaria.

La estreptocinasa también se ha usado ampliamente en el tratamiento de trombosis coronaria, pero tiene la desventaja de ser antigénica. El t-PA también se ha usado en el tratamiento de apoplejía isquémica, oclusión arterial periférica y embolia pulmonar.

Hay varios trastornos, entre ellos el cáncer y la sepsis, en los cuales **aumentan las concentraciones de activadores del plasminógeno**. Además, las **actividades antiplasmina** aportadas por la α_1-antitripsina y la α_2-antiplasmina pueden estar alteradas en enfermedades como la cirrosis. Dado que ciertos productos bacterianos, como la estreptocinasa, tienen la capacidad de activar el plasminógeno, quizá sean la causa de la hemorragia difusa que a veces se observa en pacientes con infecciones bacterianas diseminadas.

La agregación plaquetaria requiere señalización transmembrana de afuera hacia adentro y de dentro hacia afuera

En circunstancias normales las plaquetas circulan en forma de disco no estimulada. **Durante la hemostasis o trombosis, se activan y ayudan a formar tapones hemostáticos o trombos (figura 55-7).** Participan tres pasos principales: 1) adherencia de colágeno expuesto en vasos sanguíneos, 2) liberación (exocitosis) del contenido de sus gránulos de almacenamiento y 3) agregación.

Las plaquetas se adhieren al colágeno por medio de receptores específicos sobre la superficie plaquetaria, incluso los com-

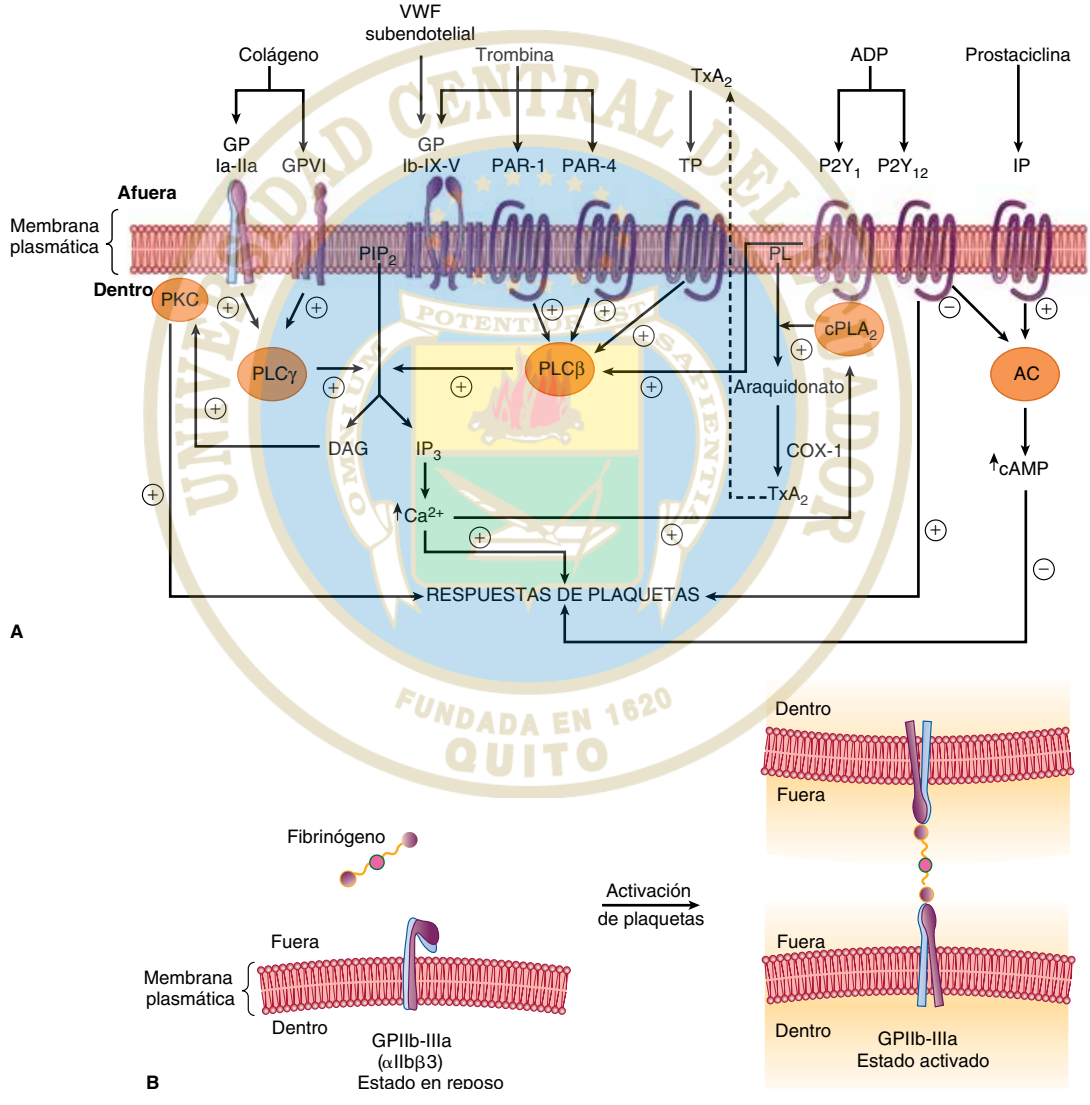


FIGURA 55-7 **(A) Diagrama de la activación plaquetaria por colágeno, trombina, tromboxano A_2 y ADP e inhibición por prostaciclina.** El ambiente externo, la membrana plasmática, y el interior de una plaqueta se describen de arriba abajo. La respuesta de las plaquetas comprende, dependiendo del agonista, cambio de la forma de las plaquetas, liberación del contenido de los gránulos de almacenamiento, y agregación. (AC, adenilil ciclasa; cAMP, AMP cíclico; COX-1 ciclooxigenasa-1; $cPLA_2$, fosfolipasa A_2 citosólica; DAG, 1,2-diacilglicerol; GP, glucoproteína; IP, receptor de prostaciclina; IP_3, inositol 1,4,5-trifosfato; $P2Y_1$, $P2Y_{12}$, purinoceptores; PAR, receptor activado por proteasa; PIP_2, fosfatidilinositol 4,5-bifosfato; PKC, proteína cinasa C; PL, fosfolípido; PLCβ, fosfolipasa Cβ; PLCγ, fosfolipasa Cγ; TP, receptor de tromboxano A_2; TXA_2, tromboxano A_2; VWF, factor de Von Willebrand). Las proteínas G que están involucradas no se muestran. **(B) Diagrama de la agregación plaquetaria mediada por unión de fibrinógeno a moléculas de GPIIb-IIIa activadas sobre plaquetas adyacentes.** Los eventos de señalización iniciados por todos los fármacos agregantes transforman el GPIIb-IIIa desde su estado en reposo hacia una forma activada que puede unirse a fibrinógeno divalente o, al alto esfuerzo cortante que ocurre en vasos de pequeño calibre, a factor de Von Willebrand multivalente.

plejos de glucoproteína GPIa-IIa (α2β1 integrina; capítulo 52) y GPIb-IX-V y GPVI. La unión de GPIb-IX-V al colágeno está mediada por el factor de Von Willebrand; esta interacción es en especial importante en la adherencia de plaquetas al subendotelio en las condiciones de tensión de corte alta que ocurren en vasos de pequeño calibre y arterias parcialmente estenosadas.

Las plaquetas adherentes al colágeno cambian de forma y se esparcen sobre el subendotelio. Estas plaquetas adherentes liberan el contenido de sus **gránulos de almacenamiento** (los gránulos densos y los gránulos α); algunas de las moléculas liberadas amplifican las respuestas a la lesión de la pared del vaso. La liberación de gránulos también es estimulada por la trombina.

La **trombina**, que se forma a partir de la cascada de la coagulación, es el activador más potente de las plaquetas, e inicia la activación al interactuar con sus receptores PAR (receptor activado por proteasa)-1, PAR-4 y GPIb–IX–V sobre la membrana plasmática de las plaquetas (**figura 55-7A**). Los eventos adicionales que llevan a la activación de plaquetas en el momento de la unión a PAR-1 y PAR-4 son ejemplos de **señalización transmembrana** de afuera hacia adentro, en la cual un mensajero químico fuera de las células genera moléculas efectoras dentro de la célula. En este caso, la trombina actúa como el mensajero químico externo (estímulo o agonista). La interacción de la trombina con sus receptores acoplados a proteína G PAR-1 y PAR-4 estimula la actividad de una **fosfolipasa Cβ** intracelular. Esta enzima hidroliza el fosfolípido de membrana **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato** (PIP_2, una fosfoinositida) para formar las dos moléculas efectoras internas, 1,2-diacilglicerol y 1,4,5-trifosfato de inositol (figura 42-7).

La hidrólisis del PIP_2 también está comprendida en la acción de muchas hormonas y fármacos. El diacilglicerol estimula a la **proteína cinasa C**, que fosforila la proteína **pleckstrina** (47 kDa); esto da por resultado agregación y liberación del contenido de los gránulos de almacenamiento. El **ADP** liberado a partir de gránulos densos también puede activar plaquetas mediante sus receptores acoplados a proteína G específicos (figura 55-7A), lo que origina agregación de plaquetas adicionales. El **IP_3** causa liberación de Ca^{2+} hacia el citosol, principalmente a partir del sistema tubular denso (sobre el retículo endoplásmico liso residual del megacariocito), que después interactúa con calmodulina y cadena ligera de miosina cinasa, lo que lleva a fosforilación de las cadenas ligeras de la miosina. Estas cadenas después interactúan con la actina, lo que causa cambios de la forma de la plaqueta.

La activación (inducida por colágeno) de una **fosfolipasa A_2 citosólica** de plaquetas, mediante concentración aumentada de Ca^{2+} intracelular, da lugar a liberación de ácido araquidónico a partir de fosfolípidos de la membrana plaquetaria, lo que lleva a la formación de **tromboxano A_2** (capítulo 23). El tromboxano A_2, a su vez, al unirse a su receptor de TP acoplado a proteína G puede activar más la fosfolipasa C, lo que promueve la agregación plaquetaria (figura 55-6A).

Las plaquetas activadas, además de formar un agregado de plaquetas, aceleran la activación del factor X y de la protrombina al exponer el fosfolípido aniónico fosfatidilserina sobre su superficie de membrana (figura 55-1). El polifosfato, liberado a partir de los gránulos densos, acelera la activación del factor V y acelera también la activación del factor XI por la trombina.

Todos los **agentes agregantes**, incluso la trombina, el colágeno, el ADP y otros, como el factor activador de plaquetas, por medio de una vía de señalización de dentro hacia afuera, modifican el **complejo de glucoproteína GPIIb-IIIa** (αIIbβ3; capítulo 52) de la superficie plaquetaria, de modo que el receptor tiene afinidad más alta por el **fibrinógeno** o por el **factor de Von Willebrand** (figura 55-7B). A continuación, las moléculas de fibrinógeno divalente (o de factor de Von Willebrand multivalente), enlazan entre sí plaquetas activadas adyacentes, lo que forma un agregado de plaquetas. La agregación plaquetaria mediada por factor de Von Willebrand ocurre en condiciones de tensión de corte alta. Algunos agentes, entre ellos adrenalina, serotonina y vasopresina, ejercen efectos sinérgicos con otros agentes agregantes.

Las células endoteliales sintetizan prostaciclina y otros compuestos que afectan la coagulación y la trombosis

Las **células endoteliales** en las paredes de vasos sanguíneos hacen contribuciones importantes a la regulación general de la hemostasia y la trombosis. Estas células sintetizan el prostanoide **prostaciclina** (PGI_2), un potente inhibidor de la agregación plaquetaria (capítulo 23). La prostaciclina actúa al estimular la actividad de la adenilil ciclasa en las membranas de superficie de plaquetas por medio de su receptor acoplado a proteína G (figura 55-7A). El aumento resultante del **cAMP** intraplaquetario se opone al incremento de la concentración de Ca^{2+} intracelular producido por el IP_3 y, así, inhibe la activación de plaquetas; esto contrasta con el efecto del prostanoide tromboxano A_2, formado por plaquetas activadas, que es el de promover la agregación. Las células endoteliales desempeñan otras funciones en la regulación de la trombosis; por ejemplo, poseen una **ADPasa**, que hidroliza ADP y, así, se opone al efecto agregante sobre plaquetas. Además, estas células parecen sintetizar **heparán sulfato**, un anticoagulante, y sintetizan también **activadores del plasminógeno**, que pueden ayudar a disolver trombos. El **óxido nítrico** (factor relajante derivado del endotelio) se comenta en el capítulo 49.

El análisis de los mecanismos de **captación de lipoproteínas aterogénicas**, como LDL, por células endoteliales, de músculo liso y células monocíticas de arterias, junto con estudios detallados de cómo estas lipoproteínas dañan esas células, es un área clave de estudio en la elucidación de los mecanismos de la **aterosclerosis** (capítulo 26).

El ácido acetilsalicílico (aspirina) es uno de varios antiplaquetarios eficaces

Los fármacos antiplaquetarios inhiben las respuestas de las plaquetas. El antiplaquetario de uso más frecuente es la **aspirina**, que acetila de manera irreversible y, así, inhibe el sistema de ciclooxigenasa (COX-1) plaquetario involucrado en la formación de tromboxano A_2 (capítulo 15), un potente agregador de plaquetas, y vasoconstrictor. Las plaquetas son muy sensibles a la aspirina; apenas 30 mg/día (una tableta regular de aspirina contiene 325 mg) eliminan con eficacia la síntesis de tromboxano A_2. La aspirina también inhibe la producción de prostaciclina (PGI_2, que se opone a la agregación plaquetaria y es un vasodilatador)

por las células endoteliales pero, a diferencia de las plaquetas, estas células regeneran ciclooxigenasa en el transcurso de algunas horas. Así, el equilibrio general entre tromboxano A_2 y prostaciclina puede desviarse a favor de esta última, lo que se opone a la agregación plaquetaria. De este modo, las indicaciones para el tratamiento con aspirina comprenden manejo de síndromes coronarios agudos (angina, infarto de miocardio) síndromes de apoplejía aguda (ataques isquémicos cerebrales transitorios, apoplejía isquémica aguda), estenosis grave de la arteria carótida, y prevención primaria de éstas y otras enfermedades aterotrombóticas.

Otros antiplaquetarios incluyen **clopidogrel**, **prasugrel** y **ticagrelor**, inhibidores específicos del receptor $P2Y_{12}$ para ADP y antagonistas de la unión de ligando a GPIIb-IIIa (p. ej., **abciximab**) que interfieren con la unión de fibrinógeno y factor de Von Willebrand y, así, con la agregación plaquetaria.

Los análisis de laboratorio miden la coagulación, la trombólisis y la agregación plaquetaria

Se dispone de varios **análisis de laboratorio** para medir las **fases de la hemostasia** ya descritas, e incluyen **recuento plaquetario, tiempo de sangrado/cierre, agregación plaquetaria, tiempo de tromboplastina parcial activada** (**aPTT** o PTT), **tiempo de protrombina (PT), tiempo de trombina (TT), concentración de fibrinógeno, estabilidad del coágulo de fibrina** y **medición de productos de degradación de la fibrina**. El **recuento plaquetario** cuantifica el número de plaquetas. El **tiempo de sangrado de la piel** es un análisis general de la función de las plaquetas y de la pared de los vasos, mientras que el **tiempo de cierre** que se mide usando el analizador de la función plaquetaria PFA-100 es un análisis *in vitro* de la hemostasia relacionada con plaquetas. La **agregación plaquetaria** mide respuestas a agentes agregantes específicos. El aPTT es una medida de la vía intrínseca y el PT de la vía extrínseca; el aPTT se usa para vigilar la terapia con heparina y el PT para medir la eficacia de la warfarina. El lector encontrará una exposición sobre estos análisis en un tratado de hematología.

RESUMEN

- La hemostasia y la trombosis son procesos complejos que comprenden factores de la coagulación, plaquetas y vasos sanguíneos.
- Muchos factores de la coagulación son zimógenos de serina proteasas, que quedan activados y luego inactivados durante el proceso general.
- Hay vías tanto extrínseca como intrínseca de la coagulación; la primera se inicia *in vivo* mediante el factor hístico. Las vías convergen en el factor Xa, y finalmente dan por resultado conversión, catalizada por trombina, de fibrinógeno en fibrina, que se fortalece mediante la formación de enlaces cruzados covalentes, catalizada por el factor XIIIa.
- Ocurren trastornos genéticos que llevan a sangrado; los principales comprenden el factor VIII (hemofilia A), factor IX (hemofilia B) y factor de Von Willebrand (enfermedad de Von Willebrand).
- La antitrombina es un importante inhibidor natural de la coagulación; la deficiencia genética de esta proteína puede dar por resultado trombosis.
- Para su actividad, los factores II, VII, IX y X, y las proteínas C y S, requieren γ-carboxilación, dependiente de vitamina K, de ciertos residuos glutamato, proceso que se inhibe mediante el anticoagulante warfarina.
- La plasmina disuelve la fibrina. La plasmina existe como un precursor inactivo, el plasminógeno, que puede ser activado por el activador del plasminógeno hístico (t-PA). Tanto el t-PA como la estreptocinasa se usan ampliamente para tratar trombosis temprana en las arterias coronarias.
- La trombina y otros agentes causan agregación plaquetaria, que comprende diversos eventos bioquímicos y morfológicos. La estimulación de la fosfolipasa C y de la vía de la fosfoinositida es un elemento clave en la activación de plaquetas, pero también participan otros procesos.
- La aspirina es un importante antiplaquetario que actúa al inhibir la producción de tromboxano A_2.

REFERENCIAS

Hoffman R, Benz EJ Jr, Silberstein LR, *et al* (editors): *Hematology: Basic Principles and Practice*, 6th ed. Elsevier Saunders, 2013.

Israels SJ (editor): *Mechanisms in Hematology*, 4th ed. Core Health Sciences Inc, 2011. (This text has many excellent illustrations of basic mechanisms in hematology.)

Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, *et al*: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 18th ed. McGraw-Hill, 2011.

Marder VJ, Aird WC, Bennett JS, *et al* (editors): *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

Michelson AD (editor): *Platelets*, 3rd ed. Elsevier, 2013.

CAPÍTULO 56

Cáncer: una perspectiva general

Molly Jacob, MBBS, MD, PhD, Joe Varghese, MBBS, MD, Robert K. Murray, MD, PhD & P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Presentar una perspectiva general de los aspectos importantes de las características bioquímicas y genéticas de las células cancerosas.
- Describir propiedades importantes de oncogenes y genes supresores tumorales.
- Describir brevemente los conceptos de inestabilidad genómica, aneuploidía y angiogénesis en tumores.
- Comentar el uso de marcadores tumorales para dar seguimiento a las respuestas a tratamientos y para detectar recurrencias.
- Apreciar que el entendimiento reciente de las propiedades biológicas del cáncer ha llevado a la creación de varias terapias nuevas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los cánceres constituyen la **segunda causa más común de muerte**, después de la enfermedad cardiovascular, en EU y muchos otros países. Cada año, alrededor de 8 millones de personas de todo el mundo mueren por cáncer y se calcula que esta cifra va en aumento. Personas de todas las edades presentan cáncer y hay afección de una amplia variedad de órganos. A nivel mundial, los principales tipos de cáncer que explican mortalidad son los que afectan pulmones, estómago, colon, recto, hígado y mamas. Otros tipos de cáncer que llevan a la muerte son los cánceres cervical, esofágico y prostático. Los cánceres cutáneos son muy comunes pero, salvo los melanomas, en general no son tan agresivos como los ya mencionados. La **incidencia** de muchos cánceres **aumenta con la edad**, por ende, a medida que las personas vivan más tiempo, muchas más presentarán la enfermedad. Los factores hereditarios están implicados en algunos tipos de tumores. Además del gran sufrimiento individual causado por la enfermedad, la carga económica para la sociedad es inmensa.

ALGUNOS COMENTARIOS GENERALES SOBRE LAS NEOPLASIAS

"Neoplasia" se refiere a cualquier crecimiento nuevo y anormal de tejido; puede ser de naturaleza benigna o maligna. El término "cáncer" por lo general se relaciona con tumores malignos. Los tumores pueden surgir en cualquier órgano del cuerpo y dar lugar a diferentes datos clínicos, dependiendo de la ubicación del tumor.

Las **células cancerosas** se caracterizan por ciertas **propiedades clave:** 1) **proliferan con rapidez**; 2) muestran **control disminuido del crecimiento**; 3) muestran **pérdida de la inhibición por contacto** *in vitro*; 4) **invaden tejidos locales** y se diseminan, o **metastatizan**, hacia otras partes del cuerpo; 5) son **autosuficientes en cuanto a señales de crecimiento** e **insensibles a señales anticrecimiento;** 6) estimulan la **angiogénesis** local, y 7) a menudo son capaces de **evadir la apoptosis**. Estas propiedades son características de células de **tumores malignos**. Son las metástasis las que por lo general son la causa de la muerte de pacientes que tienen cáncer; estos puntos se resumen en la **figura 56-1**. En contraste, las células de **tumores benignos** también muestran control disminuido del crecimiento, pero no invaden tejido local ni se diseminan hacia otras partes del cuerpo. En la **figura 56-2** se muestran varias otras propiedades importantes asociadas con células cancerosas. Estos diversos puntos se comentan más adelante.

Los **problemas fundamentales en el cáncer** son elucidar los mecanismos bioquímicos y genéticos que subyacen el crecimiento descontrolado de células cancerosas, su capacidad para invadir y metastatizar, así como desarrollar tratamientos exitosos que destruyan células cancerosas, mientras que causen daño mínimo a células normales. Se ha hecho considerable progreso en el entendimiento de la naturaleza básica de las células cancerosas y ahora en general se acepta que si bien mutaciones en genes clave contribuyen de manera significativa a enfermedades malignas (particularmente en la fase de inicio de la oncogénesis), otros factores también están implicados en el desarrollo de fenotipos malignos. El estado inmunológico del organismo y el microambiente tisu-

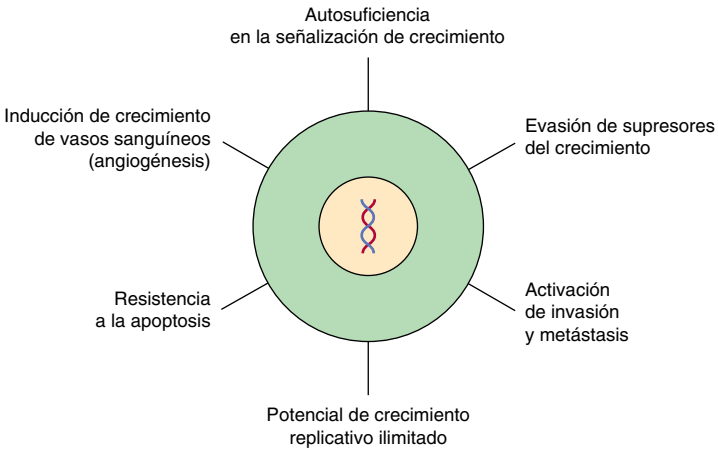


FIGURA 56-1 Seis características importantes de las células cancerosas. En la figura 56-2 se muestran otras propiedades importantes de dichas células. (Según Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer: The next generation. Cell 2011; 144:646-674).

lar son dos factores clave. Investigación reciente ha mostrado que el microambiente de células huésped y tumorales, y las interacciones entre ellas, contribuyen a la patogenia de las enfermedades malignas. Sin embargo, muchos aspectos de la conducta de células cancerosas, en particular su capacidad para diseminarse o metastatizar, todavía no se comprenden por completo. Además, pese a mejoras en el tratamiento de ciertos tipos de cánceres, las terapias aún fracasan a menudo. El estudio del cáncer (oncología) es un área enorme, de modo que aquí sólo es posible introducir al lector a algunos aspectos clave.

En el **glosario** que se presenta al final de este capítulo se resumen los significados de muchos de los términos que se utilizan.

CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DE LA CARCINOGÉNESIS

Se cree que el daño genético no letal es el evento iniciador en la carcinogénesis. Hay principalmente cuatro clases de genes, que cuando presentan mutaciones que causan ganancia de función, o pérdida de función, o regulación inapropiada, pueden dar por resultado el desarrollo de un tumor. Éstos son **protooncogenes**, genes **supresores tumorales**, genes de **reparación de DNA** y genes que regulan la **apoptosis** o la evasión de la vigilancia inmunitaria. El cáncer es de **origen clonal**, una célula anormal única, a menudo con múltiples alteraciones genéticas, se multiplica para convertirse en una masa de células que forman un tumor. Como se mencionó, el **microambiente tisular influye sobre los procesos** que ocurren. La naturaleza exacta de estas influencias puede variar con los tipos de células involucrados, las interacciones intercelulares y la presencia de factores como señales paracrinas, hipoxia local y respuestas proinflamatorias. De este modo, la carcinogénesis es un **proceso de múltiples pasos**, que finalmente transforma células normales en malignas. Por ende, los tumores a menudo tardan algunos años a décadas para desarrollarse hasta magnitudes macroscópicas.

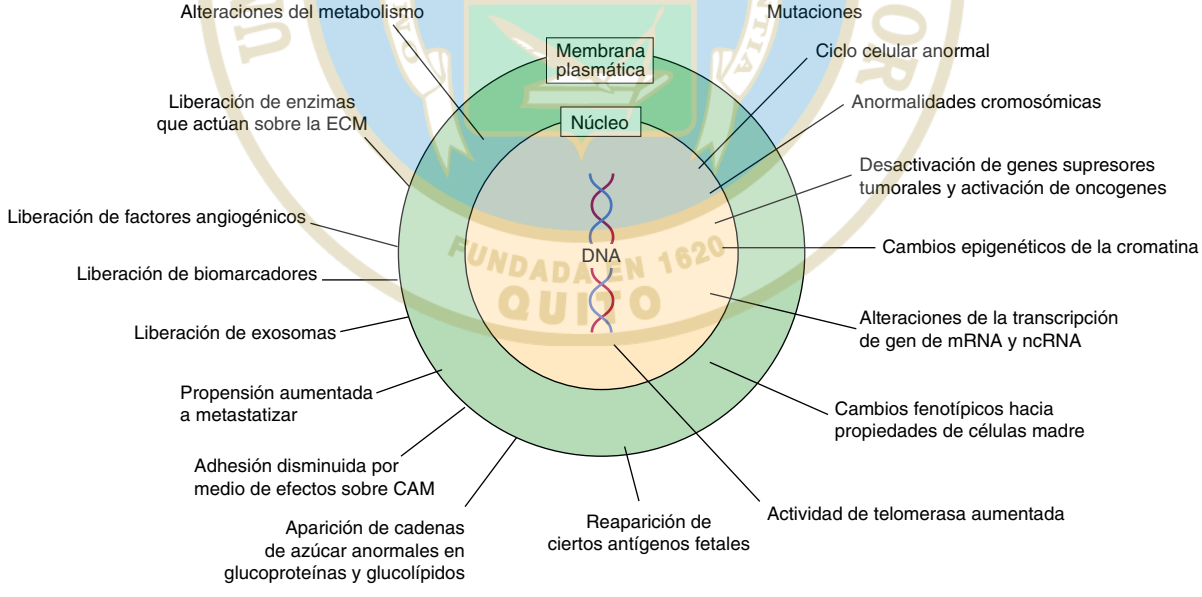


FIGURA 56-2 Algunos cambios bioquímicos y genéticos que ocurren en células cancerosas del humano. En las células cancerosas se observan muchos cambios, además de los que se indican en la figura 56-1; aquí se muestran sólo algunos de éstos. Las funciones de las mutaciones en la activación de oncogenes y la desactivación de genes supresores tumorales se comentan en el texto. Las anormalidades del paso de la célula por ciclos y de la estructura de los cromosomas y de la cromatina, incluso aneuploidía, son comunes. Se han reportado alteraciones de la expresión de mRNA específicos y ncRNA reguladores, y la relación de células madre con células cancerosas es un área de investigación muy activa. La actividad de telomerasa a menudo es detectable en células cancerosas. Los tumores a veces sintetizan ciertos antígenos fetales, que pueden ser medibles en la sangre. En muchos estudios se han detectado cambios de los constituyentes de la membrana plasmática (p. ej., alteración de las cadenas de azúcar de diversas glucoproteínas —algunas de las cuales son moléculas de adhesión celular— y glucolípidos), y quizá sean de importancia en relación con adhesión celular disminuida y metástasis. Diversas moléculas son liberadas a partir de células cancerosas, en formas soluble o vesicular rodeada por membrana, y pueden detectarse en la sangre o en el líquido extracelular; éstas incluyen metabolitos, lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos. Algunos tumores también liberan factores angiogénicos y diversas proteinasas. Se han observado muchos cambios del metabolismo; por ejemplo, las células cancerosas a menudo muestran una tasa alta de glucólisis aeróbica. (CAM, molécula de adhesión celular, ECM, matriz extracelular).

CAUSAS DEL DAÑO GENÉTICO

El daño genético puede deberse a mutaciones adquiridas o hereditarias. Las primeras ocurren debido a exposición a carcinógenos ambientales, mientras que las segundas son hereditarias. Esas anormalidades hereditarias dan lugar a varias **afecciones familiares** que predisponen a cáncer hereditario. Estas mutaciones se encuentran en genes específicos (p. ej., genes supresores tumorales; genes de reparación de DNA, etc.) presentes en las células germinales y se comentan más adelante.

Las **mutaciones espontáneas**, algunas de las cuales pueden predisponer a cáncer, ocurren a una frecuencia de alrededor de 10^{-7} a 10^{-6} por cada célula por cada generación. Esta tasa aumentará en tejidos sujetos a una tasa de proliferación alta, lo que incrementa la generación de células cancerosas a partir de las células progenitoras afectadas. El **estrés oxidativo** (capítulo 45), generado al producir números aumentados de especies de oxígeno reactivas, puede ser un factor en el aumento de la tasa de mutación a nivel molecular.

LA ENERGÍA RADIANTE, LAS SUSTANCIAS QUÍMICAS Y CIERTOS VIRUS SON LAS PRINCIPALES CAUSAS CONOCIDAS DE CÁNCER

En general, hay tres clases de carcinógenos, la exposición a los cuales da por resultado la formación de tumor: **energía radiante, sustancias químicas** y **ciertos virus oncogénicos** (**figura 56-3**). Las dos primeras causan mutaciones en el DNA y la tercera clase por lo general actúa al introducir genes nuevos en células normales.

Aquí sólo se describe brevemente la manera en que la energía radiante, las sustancias químicas y los virus oncogénicos causan cáncer.

La energía radiante puede ser carcinogénica

Los **rayos ultravioleta**, los **rayos X** y los **rayos γ** son mutagénicos y carcinogénicos. Estudios extensos han mostrado que estos agentes pueden dañar el DNA de diversas maneras, incluso las lesiones que se listan en el **cuadro 56-1** (figura 35-22). Se cree que las mutaciones del DNA debidas a ese tipo de daño son el mecanismo básico de carcinogenicidad causada por energía radiante, si bien las vías exactas todavía se están investigando. Adicionalmente los rayos X y los rayos γ pueden causar la formación de especies de oxígeno reactivas (ROS), que también pueden ser mutagénicas y probablemente contribuyen a los efectos carcinogénicos de la energía radiante.

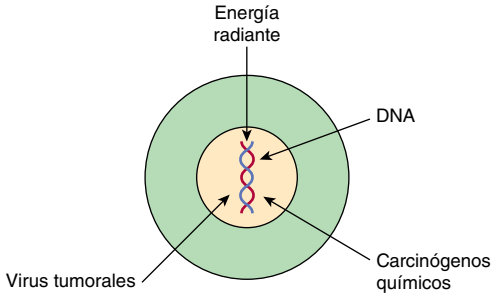


FIGURA 56-3 **Energía radiante, carcinógenos químicos y ciertos virus pueden causar cáncer al dañar el DNA cromosómico.**

CUADRO 56-1 **Algunos tipos de daño de DNA causado por energía radiante**

• Formación de dímeros de pirimidina
• Formación de sitios apurínicos o apirimidínicos por eliminación de bases correspondientes
• Formación de roturas monocatenarias o bicatenarias o entrecruzamiento (*cross-linking*) de cadenas de DNA

La exposición a la radiación ultravioleta es común debido a la exposición a la luz solar, que es su principal fuente. Amplia evidencia muestra que ese tipo de radiación está correlacionada con cánceres de la piel. El riesgo de presentar cáncer cutáneo debido a radiación ultravioleta aumenta con la frecuencia y la intensidad crecientes de la exposición y con el contenido decreciente de melanina de la piel.

El daño del DNA producido por agentes ambientales por lo general es eliminado mediante mecanismos de reparación de DNA (capítulo 35). Entonces, no sorprende que, dada la naturaleza mutagénica del daño de DNA, los individuos que tienen una incapacidad hereditaria para reparar el DNA tienen riesgo aumentado de presentar una enfermedad maligna (cuadro 35-9; capítulo 57).

Muchas sustancias químicas son carcinogénicas

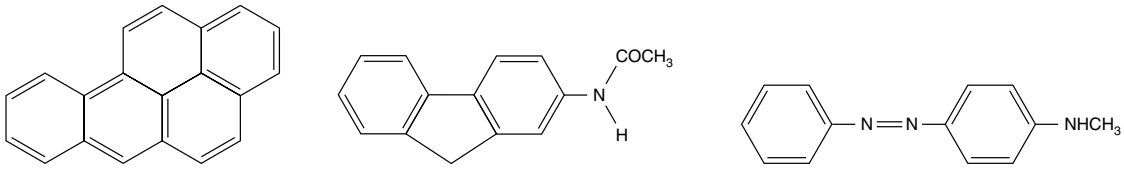
Una amplia variedad de compuestos químicos son carcinogénicos (**cuadro 56-2** y **figura 56-4**). Se estima que tal vez **80%** de los cánceres de humanos se origina por factores ambientales, principalmente sustancias químicas.

Se han realizado extensos estudios en el campo de la carcinogénesis química. En general, se cree que casi todos los **carcinógenos químicos interactúan de manera covalente con el DNA**, lo que forma una amplia variedad de **aductos**. Dependiendo de la extensión del daño del DNA y su reparación mediante los sistemas de reparación del DNA (capítulo 35), diversas mutaciones del DNA pueden producirse por exposición de un animal o persona a carcinógenos químicos, algunos de los cuales contribuyen a la aparición de cáncer.

CUADRO 56-2 **Algunos carcinógenos químicos**

Clase	Compuesto
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Benzo[a]pireno, dimetilbenz-antraceno
Aminas aromáticas	2-Acetilaminofluoreno, *N*-metil-4-aminoazobenceno (MAB)
Nitrosaminas	Dimetilnitrosamina, dietilnitrosamina
Diversos fármacos	Alquilantes (p. ej., ciclofosfamida), dietilestilbestrol
Compuestos naturales	Dactinomicina, aflatoxina B_1

Nota: como se listan arriba, algunos fármacos usados como quimioterápicos (p. ej., ciclofosfamida) pueden ser carcinogénicos. En el pasado, se administró dietilestilbestrol a mujeres como un agente estrogénico; si quedaron embarazadas, algunas de sus hijas presentaron cáncer vaginal.



Benzo[a]pireno **2-Acetilaminofluoreno** ***N*-metil-4-aminoazobenceno**

FIGURA 56-4 **Estructuras de tres carcinógenos químicos usados ampliamente con fines experimentales.**

Ciertas sustancias químicas interactúan de modo directo con el DNA (p. ej., metcloretamina y β-propiolactona), pero otras (**procarcinógenos**) requieren conversión mediante acción enzimática para convertirse en **carcinógenos finales** (**figura 56-5**). Casi todos los carcinógenos finales son **electrófilos** (moléculas con deficiencia de electrones) y atacan fácilmente grupos nucleofílicos (ricos en electrones) en el DNA. La conversión de sustancias químicas en carcinógenos finales se debe principalmente a las acciones de diversas especies de **citocromo P450** ubicadas en el retículo endoplasmático (ER) (capítulo 53); este hecho se usa en el análisis de Ames (véase más adelante), en el cual se añade una alícuota de sobrenadante posmitocondrial (que contiene ER) al sistema de análisis como una fuente de enzimas del citocromo P450.

La carcinogénesis química comprende dos estadios: inicio y promoción. El inicio es el estadio en la cual la exposición a una sustancia química causa daño irreversible del DNA y es un evento inicial necesario para que una célula se haga cancerosa. La promoción comprende el estadio en el cual una célula iniciada empieza a crecer y proliferar de manera anormal. El efecto acumulativo de estos estadios es una neoplasia.

Los carcinógenos químicos pueden identificarse al investigar su mutagenicidad. Una manera sencilla de hacer esto es con el **análisis de Ames** (**figura 56-6**). Esta prueba relativamente sencilla, que detecta mutaciones en *Salmonella typhimurium* causadas por sustancias químicas, ha resultado muy valiosa para propósitos de investigación. Una refinación de la prueba de Ames es añadir una alícuota de retículo endoplasmático al análisis, para hacer posible identificar procarcinógenos. De los compuestos que han tenido resultados negativos en el análisis de Ames, muy pocos, si es que hay alguno, se ha mostrado que causen tumores en animales. Sin embargo, se requieren análisis en animales para mostrar de manera inequívoca que una sustancia química es carcinogénica.

Cabe hacer notar que los compuestos que alteran factores epigenéticos (como la metilación del DNA y/o modificaciones postransduccionales de histona; capítulo 38) que pueden predisponer a cáncer, no tendrían resultados positivos en la prueba de Ames, puesto que no son mutagénicos.

A. Carcinógeno directo → DNA

Enzima

B. Procarcinógeno → Carcinógeno final → DNA

FIGURA 56-5 **Carcinógenos (A) directos y (B) indirectos.** Los carcinógenos directos pueden interactuar con el DNA sin activación enzimática previa. Los carcinógenos indirectos son activados por una enzima (p. ej., una especie de citocromo P450) al carcinógeno final y entonces interactúan con el DNA.

Aproximadamente 15% de los cánceres de humanos puede originarse por virus

El estudio de **virus tumorales** ha contribuido de manera muy importante al entendimiento del cáncer. Por ejemplo, el descubrimiento tanto de oncogenes como de genes supresores tumorales (véase más adelante) surgió a partir de estudios de virus oncogénicos. Virus tanto DNA como RNA han sido identificados como capaces de causar cánceres en humanos (**cuadro 56-3**). Los detalles de cómo cada uno de estos virus causa cáncer no se describirán aquí. En general, el material genético del virus es incorporado en el genoma de la célula huésped. En el caso de virus RNA, esto ocurriría después de transcripción inversa del RNA viral hacia DNA viral. Esa integración del DNA viral (llamado el provirus) con el DNA del huésped da lugar a varios eventos como **desregulación del ciclo celular**, **inhibición de la apoptosis** y **anormalidades de las vías de señalización celulares**.

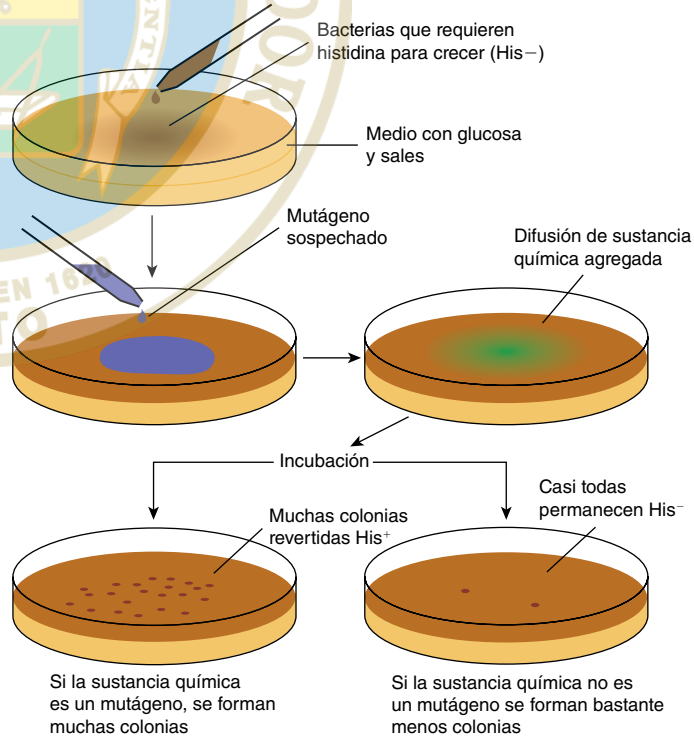


FIGURA 56-6 **El análisis de Ames para investigar mutágenos.** La sustancia química probada aumentará la frecuencia de reversión de células His^- a His^+ si es un mutágeno y, por ende, un carcinógeno potencial. Una placa testigo (que no se muestra) contiene el líquido en el cual está disuelto el mutágeno sospechado. Reproducido, con autorización, de Nester EW *et al.*: *Microbiology: A Human Perspective.* 5th ed. McGraw-Hill, 2007.

CUADRO 56-3 Algunos virus que causan cánceres en humanos o que se asocian con los mismos

Virus	Genoma	Cáncer
Virus de Epstein-Barr	DNA	Linfoma de Burkitt, cáncer nasofaríngeo, linfoma de células B
Hepatitis B	DNA	Carcinoma hepatocelular
Hepatitis C	RNA	Carcinoma hepatocelular
Herpesvirus humano tipo I	DNA	Sarcoma de Kaposi
Virus del papiloma humano (ciertos tipos)	DNA	Cáncer de cuello uterino
Virus de la leucemia humana de células T tipo 1	RNA	Leucemia de células T del adulto

Nota: se ha estimado que los cánceres de humanos correlacionados con virus causan ~ 15% de la incidencia total de cáncer.

Todos estos eventos se comentan más adelante en este capítulo. Los **virus DNA** a menudo actúan mediante regulación descendente de los genes supresores tumorales *P53* y *RB* (véase más adelante) y aquellos productos con proteínas. Los virus RNA a menudo portan oncogenes en su genoma; la manera en que los oncogenes actúan para causar enfermedad maligna se comenta más adelante.

LOS ONCOGENES Y LOS GENES SUPRESORES TUMORALES DESEMPEÑAN FUNCIONES CLAVE EN LA CAUSA DEL CÁNCER

Durante los alrededor de 30 años anteriores, se han logrado avances importantes en el entendimiento de cómo las células cancerosas se desarrollan y crecen. Dos datos clave fueron los descubrimientos de **oncogenes** y **genes supresores tumorales**. Estos descubrimientos apuntaron a mecanismos específicos mediante los cuales el crecimiento y la división celulares podrían quedar alterados, lo que da lugar a crecimiento anormal. En la **figura 56-7** se resumen los efectos generales de los oncogenes y la pérdida de la actividad de genes supresores tumorales.

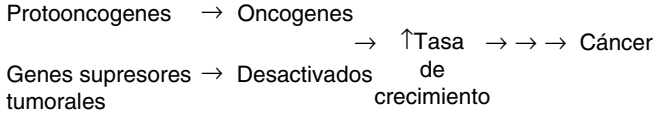


FIGURA 56-7 Los oncogenes y la pérdida de actividad de genes supresores tumorales impulsan el crecimiento de las células hacia cáncer. Los oncogenes codifican para diversas proteínas que pueden impulsar el crecimiento de células cancerosas. Los oncogenes se derivan de protooncogenes. Los genes supresores tumorales codifican para proteínas que en circunstancias normales suprimen el crecimiento celular, pero que son desactivadas cuando quedan alteradas por mutaciones. Moléculas de microRNA (que no se muestran aquí) también son afectadas por mutaciones y esto puede afectar sus funciones reguladoras normales. Además, los cambios epigenéticos (tampoco se muestran) afectan la expresión de gen y, por ende, el crecimiento de células cancerosas.

Los oncogenes se derivan de genes celulares llamados protooncogenes, y codifican para una amplia variedad de proteínas que afectan el crecimiento celular y la muerte celular

Un **oncogén** puede definirse como un gen alterado cuyo producto actúa de una manera **dominante** para acelerar el crecimiento celular o la división celular. Los oncogenes son generados por "activación" de **protooncogenes** celulares normales; es decir, genes que codifican para proteínas estimuladoras del crecimiento. Esa activación puede efectuarse por cualquiera de varios mecanismos (**cuadro 56-4**).

En el cuadro 56-4 se lista un ejemplo de una mutación puntual que ocurre en el oncogén *RAS*. *RAS* codifica para una GTPasa pequeña. La pérdida de la actividad de GTPasa de esta proteína G da por resultado estimulación crónica de la actividad de adenilil ciclasa, lo que lleva a proliferación celular (recuerde que las proteínas G son activas cuando forman complejos con GTP e inactivas cuando el GTP unido es hidrolizado a GDP; capítulo 42). Otra manera en que un oncogén puede ser activado es por medio de inserción de un aumentador y/o promotor potente torrente arriba de una región codificadora de proteína que da por resultado transcripción aumentada y, por ende, expresión de proteína del gen cognado. En la **figura 56-8A** se muestra un ejemplo en el cual la integración de un aumentador/promotor provirus retroviral (es decir, la copia de DNA [generada por transcriptasa inversa] del genoma de RNA de un virus tumoral, como el virus del sarcoma de Rous) activa *MYC*, un gen huésped vecino. La sobreproducción del factor de transcripción myc activa la transcripción de genes reguladores del ciclo celular y, por ende, estimula la proliferación celular. En células cancerosas se encuentran con bastante frecuencia **translocaciones cromosómicas**; se han documentado alrededor de miles de ejemplos diferentes. En la figura **56-8(B)** se ilustra la translocación que se encuentra en casos de linfoma de

CUADRO 56-4 Mecanismos de activación de oncogenes

Mecanismo	Explicación
Mutación	Un ejemplo clásico es la mutación puntual del oncogén *RAS*. Esto hace que el producto del gen, una GTPasa pequeña, tenga menos actividad en tumores, y que haya estimulación resultante de la actividad de adenilil ciclasa
Inserción de promotor	La inserción de una región promotora viral cerca de un gen lo activa
Inserción de aumentador	La inserción de una región a aumentadora viral cerca de un gen lo activa
Translocación cromosómica	La base es que un fragmento de un cromosoma es dividido y unido a otro. Los ejemplos clásicos son los involucrados en el linfoma de Burkitt (figura 56-8) y en el cromosoma Filadelfia (véase el glosario)
Amplificación de gen[a]	Ocurre multiplicación anormal de un gen, lo que da por resultado muchas copias. Esto puede suceder con oncogenes y con genes involucrados en la resistencia de tumores a fármacos

[a] La amplificación de gen puede reconocerse como regiones coloreadas de manera homogénea en cromosomas, o como cromosomas diminutos dobles.

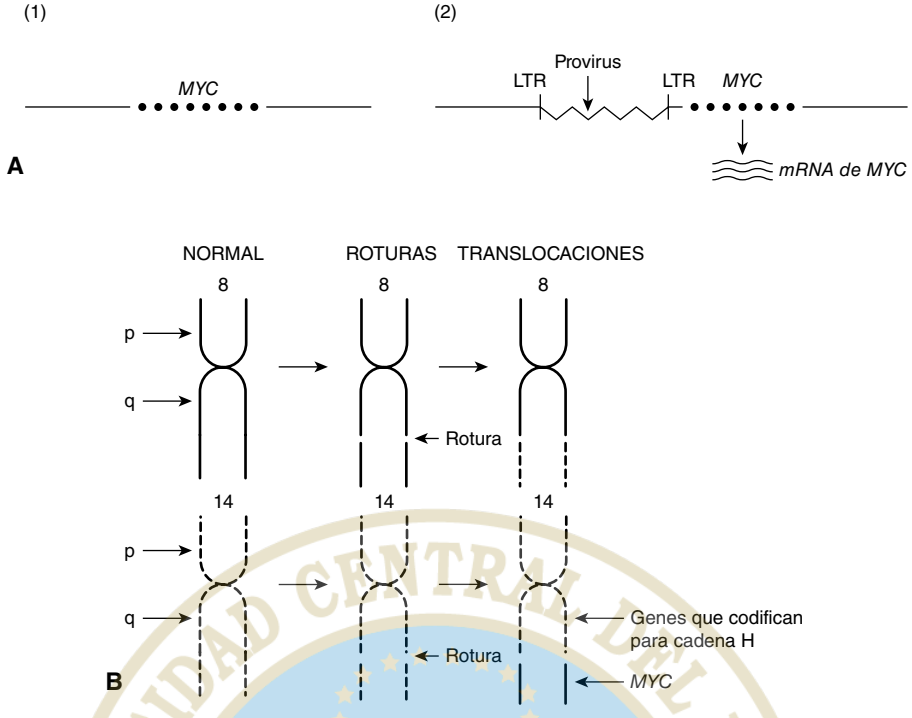


FIGURA 56-8 **A) Representación esquemática de la manera en que la inserción de promotor puede activar un protooncogén.** 1) Cromosoma de pollo normal que muestra un gen *MYC* inactivo. 2) Un virus de la leucemia aviar se ha integrado en el cromosoma en su forma proviral (una copia de DNA de su genoma RNA) adyacente al gen *MYC*. Su repetición terminal larga (LTR) diestra, que contiene un promotor fuerte (capítulo 36), yace justo torrente arriba del gen *MYC* y activa ese gen, lo que da lugar a transcripción de mRNA de *MYC*. En aras de la sencillez, sólo se describe una cadena de DNA y se han omitido los otros detalles. La inserción de aumentador actúa de modo similar, excepto porque el sitio de integración puede estar torrente abajo o considerablemente torrente arriba, y no puede actuar como un promotor. En lugar de eso, una secuencia proviral específica actúa como un elemento aumentador (capítulo 36) que lleva a activación del gen *MYC* y su transcripción. **B) Representación esquemática de la translocación recíproca involucrada en el linfoma de Burkitt.** Los cromosomas afectados son 8 y 14. Un segmento del extremo del brazo q del cromosoma 8 se desprende y se mueve hacia el cromosoma 14. El proceso inverso mueve un segmento pequeño del brazo q del cromosoma 14 al cromosoma 8. El gen *MYC* está contenido en el pequeño fragmento del cromosoma 8 que se transfirió al cromosoma 14; de este modo es colocado cerca de genes que transcriben las cadenas pesadas de moléculas de inmunoglobulina y queda activado por sí mismo. Se han identificado muchas otras translocaciones; quizá la mejor conocida es la involucrada en la formación del cromosoma Filadelfia (véase el glosario).

Burkitt. El efecto general de esta translocación también es activar *MYC*, lo que da por resultado proliferación celular. Aun otro mecanismo de activación de oncogén es por medio de **amplificación de gen** (capítulo 38), proceso que ocurre bastante comúnmente en diversos cánceres. En este caso, se forman múltiples copias de un oncogén, lo que da lugar a producción aumentada de una proteína promotora del crecimiento.

Los oncogenes activados promueven el cáncer por medio de diversos mecanismos (**figura 56-9**). Los productos proteínicos de oncogenes activados afectan las vías de señalización celular, donde pueden actuar como un factor de crecimiento, un receptor de factor de crecimiento, una proteína G o como una molécula señalizadora torrente abajo. Otras oncoproteínas actúan para alterar la transcripción o para desregular el ciclo celular. Aun otras oncoproteínas afectan las interacciones célula-célula o el proceso de la apoptosis. En conjunto, estos mecanismos ayudan a explicar muchas de las características importantes de las células cancerosas, que se muestran en la figura 56-1, como el potencial replicativo ilimitado, sus vías de señalización activadas constitutivamente, a su capacidad para invadir y diseminarse y su evasión de la apoptosis.

Ciertos **virus tumorales** (p. ej., retrovirus, papovavirus) **contienen oncogenes**. Fue el estudio de esos virus tumorales (p. ej., el virus del sarcoma de Rous [RSV], un retrovirus) lo que reveló por vez primera la presencia de oncogenes. El estudio adicional mostró que los oncogenes virales se derivaban de protooncogenes celulares que los virus tumorales habían captado durante su paso por células huésped.

Los genes supresores tumorales actúan para inhibir el crecimiento y la división celulares

Un **gen supresor tumoral** produce un producto proteínico que en circunstancias normales suprime el crecimiento o la división celular. Cuando un gen de ese tipo se altera por mutación, el efecto inhibidor de su producto se pierde o disminuye; esta pérdida lleva a incremento del crecimiento o la división celular. Como lo sugirió por vez primera AG Knudson, con base en estudios de la herencia de retinoblastomas, debe haber afección de ambas copias de un gen supresor tumoral para que pierda sus efectos inhibidores sobre el crecimiento (p. ej., un alelo mutado de pérdida de función, rb^-, es recesivo a una copia silvestre *RB* del gen).

Se ha hecho una distinción útil entre funciones de **guardabarrera** y **cuidador** de genes supresores tumorales. Los genes guardabarrera (productos) controlan la proliferación celular e incluyen principalmente genes que actúan para regular el ciclo

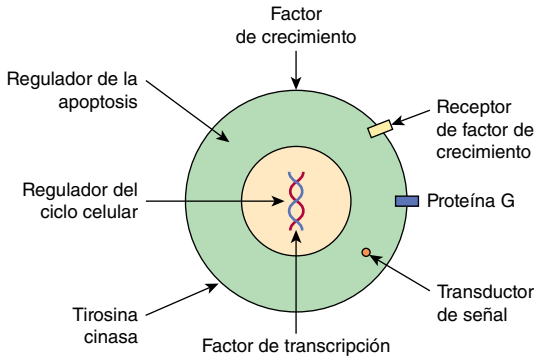


FIGURA 56-9 Algunos ejemplos de cómo funcionan las oncoproteínas. Se muestran ejemplos de diversas proteínas codificadas por oncogenes (oncoproteínas). Las proteínas se listan a continuación, con el oncogén correspondiente entre paréntesis junto con su número de OMIM. Un factor de crecimiento, el factor de crecimiento de fibroblastos 3 (*INT2*,164950); un receptor de factor de crecimiento, el receptor de factor de crecimiento epidérmico [EGFR] (*HER1*, 131550); una proteína G (*H-RAS-1*, 190020); un transductor de señal (*BRAF*, 164757); un factor de transcripción (*MYC* ,190080); una tirosina cinasa involucrada en la adhesión entre una célula y otra (*SRC* , 190090); un regulador del ciclo celular (*PRAD,* 168461), y un regulador de la apoptosis (*BCL2*, 151430).

celular y la apoptosis. En contraste, los productos de los genes cuidadores se relacionan con la preservación de la integridad del genoma, e incluyen genes cuyos productos están involucrados en el reconocimiento de daño del DNA y la corrección del mismo, y en el mantenimiento de la integridad cromosómica durante la división celular. Ahora se han identificado muchos oncogenes y genes supresores tumorales; aquí sólo se mencionan algunos. En el **cuadro 55-5** se listan algunas diferencias importantes entre oncogenes y genes supresores tumorales. El **cuadro 55-6** menciona algunas de las propiedades de dos de los oncogenes más estudiados (*MYC* y *RAS*) y dos de los genes supresores tumorales más estudiados (*P53* y *RB*).

Los miRNA son participantes clave en la carcinogénesis y las metástasis tumorales.

Los micro RNA (miRNA) son moléculas de RNA monocatenario cortas que pueden regular la transcripción y/o traducción de genes codificadores de proteína (capítulo 34). Ahora se sabe que desempeñan múltiples funciones en cada aspecto de la formación de tumor y la progresión del mismo. Algunos miRNA son supresores tumorales y pueden actuar al degradar RNA que codifica para proteínas oncogénicas, lo que disminuye así su expresión. Se encuentra que estos miRNA están regulados en dirección descendente en diversos tipos de cáncer; por otro lado, algunos miRNA son de naturaleza oncogénica. Por ejemplo, se ha encontrado que el miR-21, uno de los miRNA oncogénicos más ampliamente estudiados está regulado en dirección ascendente en grados variables en casi todos los tipos de cáncer. Otros miRNA desempeñan funciones clave en la activación de metástasis o la inhibición de las mismas. La investigación en años recientes se ha enfocado en desarrollar fármacos que se dirigen al miRNA.

CUADRO 56-5 Algunas diferencias entre oncogenes y genes supresores tumorales

Oncogenes	Genes supresores tumorales
La mutación en uno de los dos alelos es suficiente	Ambos alelos deben estar afectados
Ganancia de función de una proteína que emite señales para la división celular	Pérdida de función de una proteína
La mutación surge en células somáticas, no es hereditaria	Mutación presente en células germinales (puede heredarse), o en células somáticas
Algo de preferencia por tejido	A menudo hay fuerte preferencia por tejido (p. ej., efecto del gen *RB* en la retina)

Fuente: Datos tomados de Levine AJ: The p53 tumor suppressor gene. N Engl J Med 1992; 326:1350.

CUADRO 56-6 Algunas propiedades de algunos oncogenes y genes supresores tumorales importantes

Nombre	Propiedades
MYC	Un oncogén (OMIM 190080) que codifica para un factor de unión a DNA que puede alterar la transcripción. Involucrado en el crecimiento celular, la progresión del ciclo celular y la replicación del DNA. Está mutado en diversos tumores
P53	Un gen supresor tumoral (OMIM 191170) que muestra respuesta a diversos estreses celulares. Induce paro del ciclo celular, apoptosis, senescencia, reparación del DNA, y está involucrado en algunos aspectos de la regulación del metabolismo celular. Se ha nombrado "el guardián del genoma". Está mutado en alrededor de 50% de los tumores de humanos. La nomenclatura P53 se refiere a la masa molecular aproximada de la proteína codificada por *P53,* como se calcula a partir de SDS-PAGE
RAS	Familia de oncogenes que codifican para la GTPasas pequeñas. Inicialmente se identificaron como los genes transformadores de ciertos virus del sarcoma murino. Los miembros importantes de la familia son K-RAS (Kirsten), H-RAS (Harvey) (OMIM 190020) y N-RAS (neuroblastoma). La activación persistente de estos genes debido a mutaciones contribuye a la aparición de diversos cánceres
RB	Un gen supresor tumoral (OMIM 180200) que codifica para la proteína RB. La RB regula el ciclo celular al unirse al factor de alargamiento E2F. Reprime la transcripción de diversos genes involucrados en la fase S del ciclo. La mutación del gen *RB* es la causa del retinoblastoma, pero también está involucrada en la génesis de algunos otros tumores (véase capítulo 35)

Estudios sobre la formación de cánceres colorrectales han aclarado la participación de oncogenes y genes supresores tumorales específicos

Se han analizado muchos tipos de tumores en cuanto a cambios genéticos. Una de las áreas más informativas a este respecto han sido los análisis de la **formación de cánceres colorrectales** por Vogelstein y colegas. Su investigación, y la de otros, han mostrado la participación de diversos oncogenes y genes supresores tumorales en cáncer de humanos. (En el caso 4 en el capítulo 57 se describe el caso de un paciente con cáncer colorrectal.) Estos investigadores analizaron diversos oncogenes, genes supresores tumorales y ciertos otros genes importantes en muestras de **epitelio de colon normal**, de **epitelio displásico** (un padecimiento

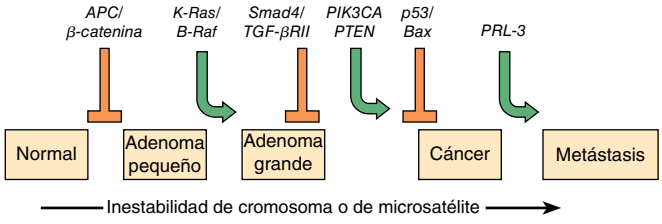


FIGURA 56-10 Cambios genéticos de múltiples pasos asociados con la aparición de cánceres colorrectales. Mutaciones en el gen *APC* inician la formación de adenomas. Se indica una secuencia de mutaciones en un oncogén y en diversos genes supresores tumorales puede dar lugar a progresión adicional hacia adenomas grandes y cáncer. Los pacientes con poliposis adenomatosa familiar (OMIM 175100) heredan mutaciones en el gen *APC* y desarrollan muchos focos de criptas aberrantes (ACF) displásicos, algunos de los cuales progresan conforme adquieren las otras mutaciones indicadas en la figura. Los tumores de pacientes con cáncer de colon hereditario sin poliposis (OMIM 120435) pasan por una serie de mutaciones similares aunque no idénticas; las mutaciones en el sistema de reparación de errores de emparejamiento (capítulo 35) aceleran este proceso. K-*RAS* es un oncogén y los otros genes específicos indicados son genes supresores tumorales. Se conocen las ubicaciones cromosómicas de los diversos genes aquí mostrados. La secuencia de eventos que se muestra aquí es variable en la aparición de todos los cánceres colorrectales. Se han descrito varias otras alteraciones genéticas en una pequeña fracción de cánceres colorrectales avanzados, mismas que pueden ser la causa de la heterogeneidad de las propiedades biológicas y clínicas observadas entre diferentes casos. En muchos tumores ocurre inestabilidad de cromosomas y de microsatélites (capítulo 35), y probablemente involucra mutaciones en un número considerable de genes. (Reproducido, con autorización, de Bunz F, Kinzler KW, Vogelstein B: Colorectal Tumors, Fig. 48-2, The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease, www.ommbid.com).

CUADRO 56-7 Algunos genes asociados con carcinogénesis colorrectal

Gen[a]	Acción de la proteína codificada
APC (OMIM 611731)	Antagoniza señalización WNT;[b] si está mutado, la señalización WNT está aumentada, lo que estimula el crecimiento celular
β-CATENINA (OMIM 116806)	Codifica para β-catenina, una proteína presente en uniones adherentes, que tienen importancia en la integridad de tejidos epiteliales
K-RAS (OMIM 601599)	Involucrado en la señalización de tirosina cinasa
BRAF (OMIM 164757)	Una serina/treonina cinasa
SMAD4 (OMIM 600993)	Afecta la señalización por el factor de crecimiento transformante-β (TGF-β)
TGF-βRII	Actúa como un receptor para TGF-β[c]
PI3KCA (OMIM 171834)	Actúa como una subunidad catalítica de la fosfatidilinositol 3-cinasa
PTEN (OMIM 601728)	Una proteína tirosina fosfatasa con un área de homología con la tensina, una proteína que interactúa con filamentos de actina en adhesiones focales
P53 (OMIM 191170)	El producto, P53, es inducido en respuesta a daño de DNA, y es también un factor de transcripción para muchos genes involucrados en la división celular (véase capítulo 35, cuadro 56-10)
BAX (OMIM 600040)	Actúa para inducir muerte celular (apoptosis)
PRL3 (OMIM 606449)	Una proteína-tirosina fosfatasa

Abreviaturas: APC, gen del cual depende la poliposis adenomatosa del colon; *BAX,* codifica para proteína X asociada a BCL2 (BCL2 es un represor de la apoptosis); *BRAF,* el homólogo humano de un protooncogén aviar; *K-RAS,* gen asociado con Kirsten-Ras; *PI3KCA,* codifica para la subunidad catalítica de la fosfatidilinositol 3-cinasa; *PRL3,* codifica para una proteína-tirosina fosfatasa con homología con PRL1, otra proteína-tirosina fosfatasa que se encuentra en el hígado en regeneración; *PTEN,* codifica para una proteína-tirosina fosfatasa y homólogo de tensina; *P53,* codifica para un polipéptido de masa molecular de 53 000; *SMAD4,* el homólogo de un gen que se encuentra en *Drosophila.*

[a] *K-RAS* y *BRAF* son oncogenes; los otros genes listados son genes supresores tumorales o genes cuyos productos están asociados con las acciones de los productos de los genes supresores tumorales.

[b] La familia WNT de glucoproteínas secretadas está involucrada en diversos procesos vinculados con el desarrollo. La tensina es una proteína que interactúa con filamentos de actina en adhesiones focales.

[c] El TGF-β es un polipéptido (un factor de crecimiento) que regula la proliferación y diferenciación en muchos tipos de células.

Nota: los diversos genes listados son oncogenes, genes supresores tumorales o genes cuyos productos están estrechamente asociados con los productos de estos dos tipos de genes. Los efectos acumulativos de las mutaciones en los genes listados son impulsar las células epiteliales del colon para que proliferen y finalmente se hagan cancerosas. Logran esto principalmente por medio de efectos sobre diversas vías de señalización que afectan la proliferación celular. También están involucrados otros genes y proteínas que no se listan aquí. Este cuadro y la figura 56-10 muestran vívidamente la importancia de un conocimiento detallado de la señalización celulares para entender la génesis del cáncer.

preneoplásico, caracterizado por desarrollo anormal de epitelio), de diversos estadios de **pólipos adenomatosos** y de **adenocarcinomas**. En la **figura 56-10** se resumen algunos de los datos principales que obtuvieron; puede observarse que se encontró que ciertos genes están mutados a estadios relativamente específicos de la secuencia total mostrada. En el **cuadro 56-7** se listan las funciones de los diversos genes identificados. La **secuencia general** de cambios puede variar un poco respecto a la mostrada y otros genes también pueden estar involucrados. Se han realizado estudios similares en varios **otros tumores de humanos** y han revelado patrones de activación de oncogenes y mutaciones de genes supresores tumorales, un poco diferentes. Las mutaciones adicionales en estos genes y en otros están involucradas en la **progresión tumoral**, un fenómeno por el cual **clonas** de células tumorales quedan seleccionadas para tasa de crecimiento rápido y capacidad para diseminarse o metastatizarse. Así, un tumor relativamente grande puede contener diversas células con diferentes genotipos, lo que hace más difícil el tratamiento exitoso. Por último, es importante reconocer que el microambiente tumoral también contribuye a estos procesos, aunque queda por elucidar su papel exacto en el cáncer colorrectal (y en otros tipos de cánceres muy estudiados).

Pueden hacerse varias otras inferencias a partir de estos resultados y de los de otros estudios similares. La primera de ellas es que el cáncer en realidad es una **enfermedad genética**, pero en un sentido un poco diferente del significado normal de la frase, en la medida en que muchas de las alteraciones de genes se deben a mutaciones somáticas. En segundo lugar, como se mencionó, la carcinogénesis es un **proceso de múltiples pasos**; se estima que casi siempre debe haber mutación de un mínimo de 5 a 6 genes para que ocurra cáncer. En tercer lugar, se cree que mutaciones subsiguientes adicionales confieren ventajas selectivas a **clonas** de células, algunas de las cuales adquieren la capacidad para metastatizarse con éxito (véase más adelante). Por último, muchos de los genes implicados en la carcinogénesis colorrectal y en otros tipos de cánceres están involucrados en **eventos de**

señalización celulares, lo que muestra el papel fundamental que desempeñan las alteraciones de la señalización en la aparición de cáncer.

LOS FACTORES DE CRECIMIENTO Y LAS ANORMALIDADES DE SUS RECEPTORES Y VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DESEMPEÑAN FUNCIONES IMPORTANTES EN LA APARICIÓN DE CÁNCER

Hay muchos factores de crecimiento

Se ha identificado una gran variedad de factores de crecimiento polipeptídicos que funcionan sobre tejidos y células de humano. Algunos se listan en el **cuadro 56-8**; esta exposición se enfoca en su relación con el cáncer.

Los factores de crecimiento pueden actuar de una manera **endocrina**, **paracrina** o **autocrina** y afectar una amplia variedad de células para producir una **respuesta mitogénica**. Como se describió (capítulo 53), los factores de crecimiento desempeñan una función crucial en la diferenciación de células hematopoyéticas.

También hay **factores inhibidores de crecimiento**; por ejemplo, el factor de crecimiento transformante-β (TGF-β) ejerce efectos inhibidores sobre el crecimiento de ciertas células. De este modo, la exposición crónica a cantidades aumentadas de un factor de crecimiento o a cantidades disminuidas de un factor inhibidor de crecimiento puede alterar el equilibrio del crecimiento celular.

CUADRO 56-8 Algunos factores de crecimiento polipeptídicos

Factor de crecimiento	Función
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Estimula el crecimiento de muchas células epidérmicas y epiteliales
Eritropoyetina (EPO)	Regula el desarrollo de células eritropoyéticas tempranas
Factores de crecimiento de fibroblastos (FGF)	Promueve la proliferación de muchas células diferentes
Interleucinas	Las interleucinas ejercen diversos efectos sobre células del sistema inmunitario
Factor de crecimiento nervioso (NGF)	Efecto trófico sobre ciertas neuronas
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	Estimula el crecimiento de células mesenquimatosas y gliales
Factor de crecimiento transformante-α (TGF-α)	Similar al EGF
Factor de crecimiento transformante-β (TGF-β)	Ejerce efectos tanto estimuladores como inhibidores sobre ciertas células

Nota: Se han identificado muchos otros factores de crecimiento. Los factores de crecimiento pueden ser sintetizados por diversas células o tener principalmente una fuente. Ahora se han aislado muchas interleucinas diferentes; junto con los interferones y algunas otras proteínas/polipéptidos, se denominan citocinas.

Los factores de crecimiento funcionan por medio de receptores y señalización transmembrana específicos para afectar las actividades de genes específicos

Los factores de crecimiento producen sus efectos al interactuar con **receptores específicos** sobre la superficie de células, lo que inicia diversos **eventos de señalización** (capítulo 42). Han sido identificados y caracterizados genes que codifican receptores para factores de crecimiento, mismo que por lo general tienen segmentos cortos que abarcan la membrana y dominios externos y citoplasmáticos. Varios (p. ej., aquellos para el factor de crecimiento epidérmico [EGF], insulina y factor de crecimiento derivado de plaquetas [PDGF]) tienen actividades de **tirosina cinasa**. La actividad de cinasa, ubicada en los dominios citoplasmáticos, causa autofosforilación de la proteína receptora y fosforila también algunas otras proteínas.

La consideración de cómo actúa el **PDGF** ilustra cómo un factor de crecimiento particular desencadena sus efectos. La interacción del PDGF con su receptor estimula la actividad de la fosfolipasa C (PLC); la PLC divide el fosfatidilinositol bifosfato (PIP_2) hacia inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG) (figura 42-6). El IP_3 aumentado estimula la liberación de Ca_2^+ intracelular, y el DAG incrementa la actividad de la proteína cinasa C (PKC). La hidrólisis de DAG puede liberar ácido araquidónico, que puede estimular la producción de prostaglandinas y leucotrienos, cada uno de los cuales tiene diversos efectos biológicos. La exposición de células blanco al PDGF puede dar lugar a activación rápida (en minutos a 1 a 2 horas) de ciertos protooncogenes celulares (p. ej., *MYC* y *FOS*), que participan en la estimulación de la mitosis por medio de efectos sobre el ciclo celular (véase más adelante). El resultado final es que los factores de crecimiento interactúan con receptores específicos, que estimulan vías de señalización específicas para incrementar o disminuir las actividades de diversos genes que afectan la división celular.

MUCHOS CÁNCERES SE PUEDEN PREVENIR AL MODIFICAR FACTORES DE RIESGO

Factores de riesgo modificables se han correlacionado con una amplia variedad de cánceres. Se ha estimado que más de la mitad de los cánceres en países desarrollados podría evitarse si las medidas que se resumen en el **cuadro 56-9** se introdujeran en el ámbito de la población. El **tabaquismo** todavía es una causa importante de cáncer en todo el mundo. La **prevención** y la **detección temprana de cáncer** son de lo más crucial para abatir la enfermedad.

LAS ANORMALIDADES DEL CICLO CELULAR SON OMNIPRESENTES EN CÉLULAS CANCEROSAS

El conocimiento del **ciclo celular** es necesario para entender muchos de los mecanismos involucrados en la aparición de cáncer. También tiene importancia porque muchos fármacos anti-

CUADRO 56-9 Medidas que podrían evitar alrededor de 50% de los cánceres si se introdujeran de manera amplia al nivel de población general

• Reducción del consumo de tabaco
• Aumento de la actividad física
• Control del peso
• Mejora de la dieta
• Limitación del consumo de alcohol
• Uso de prácticas de sexo más seguras
• Pruebas de detección de cánceres sistemáticas
• Evitación de la exposición excesiva a la luz solar

Nota: Datos tomados de Stein CJ, Colditz GA: Modifiable risk factors for cancer. Brit J Cancer 90:299 (2004).

cáncer sólo actúan contra células que se están dividiendo o en una cierta fase del ciclo.

En el capítulo 35 se describieron los aspectos básicos del ciclo celular. El ciclo tiene cuatro fases: G_1, S, G_2 y M (figura 35-20); si las células no están pasando por ciclos, se dice que están en fase G_0 y se denominan quiescentes. Las células pueden ser reclutadas hacia el ciclo desde G_0 por diversas influencias (p. ej., ciertos factores de crecimiento). El tiempo de generación es el tiempo necesario para que una célula en G_0 entre en el ciclo y dé lugar a dos células hijas. Las células de un cáncer por lo general tienen un tiempo de generación más breve que las células normales y hay menos de ellas en fase G_0.

En el capítulo 35 también se describieron las funciones de diversas **ciclinas**, **cinasas dependientes de ciclina** (CDK) y varias otras moléculas importantes que afectan el ciclo celular (p. ej., los genes *RB* y *P53*). En la figura 35-21 y el cuadro 35-7 se indican los puntos en el ciclo en los cuales actúan algunas de estas moléculas.

Dado que una propiedad importante de las células cancerosas es el crecimiento descontrolado, muchos aspectos de su ciclo celular se han estudiado con profundidad considerable. Aquí sólo pueden mencionarse algunos resultados. Se han reportado varias mutaciones que afectan ciclinas y CDK. Muchos productos de protooncogenes y genes supresores tumorales desempeñan funciones importantes en la regulación del ciclo normal. Se ha encontrado una amplia variedad de mutaciones en estos tipos de genes, entre ellos *RAS*, *MYC*, *RB*, *P53* (que figuran entre los más estudiados, véase más adelante) y muchos otros.

Por ejemplo, el producto proteínico del gen *RB* es un regulador del ciclo celular (capítulo 35). Actúa por medio de unión al factor de transcripción E2F, lo cual bloquea la progresión de la célula desde la fase G_1 hacia la S. Así, la pérdida de la proteína RB debido a mutaciones elimina este elemento de control del ciclo celular.

Cuando ocurre daño de DNA (p. ej., por radiación o sustancias químicas), la proteína p53 aumenta de cantidad y activa la transcripción de genes que retrasan el tránsito por el ciclo. Si el daño es demasiado grande como para repararlo, p53 activa genes que causan apoptosis (véase más adelante). Si p53 falta o es inactiva debido a mutación, no ocurre apoptosis, y las células con DNA dañado persisten, y tal vez se conviertan en progenitoras de células cancerosas.

LA INESTABILIDAD GENÓMICA Y LA ANEUPLOIDÍA SON CARACTERÍSTICAS IMPORTANTES DE LAS CÉLULAS CANCEROSAS

Como se mencionó y como se señala más adelante en este capítulo, las células cancerosas tienen muchas mutaciones. Una posible explicación de su **inestabilidad genómica** es que tienen un **fenotipo mutador**. Originalmente, Loeb y colaboradores postularon que esto se debía a que las células cancerosas tienen alteraciones adquiridas en genes involucrados en la replicación del DNA y la reparación del mismo, lo que permite que se acumulen mutaciones. El concepto más tarde se expandió para incluir mutaciones que afectan la segregación cromosómica, supervivencia al daño del DNA, y procesos como apoptosis.

El término "inestabilidad genómica" a menudo se usa para hacer referencia a dos anormalidades mostradas por muchas células cancerosas, **inestabilidad de microsatélite** y **cromosómica (CIN)**. La **inestabilidad de microsatélite** se describió brevemente en el capítulo 35. Comprende expansión de microsatélites o contracción de los mismos, por lo general debido a anormalidades de reparación de errores de emparejamiento, o a deslizamiento de replicación. La CIN ocurre con mayor frecuencia que la inestabilidad de microsatélite y las dos suelen ser mutuamente excluyentes. La CIN se refiere a la ganancia de cromosomas o pérdida de los mismos causada por anormalidades de la segregación cromosómica durante la mitosis.

Otra área de interés respecto a la CIN es la **variación del número de copias** (CNV) (véase el glosario). Se han identificado asociaciones de diversas CNV con muchos cánceres y se están investigando sus funciones precisas en el cáncer.

Un aspecto importante de la CIN es la **aneuploidía**, una característica muy común de los tumores sólidos. Hay aneuploidía cuando el número de cromosomas de una célula no es un múltiplo del número haploide. El grado de aneuploidía a menudo se correlaciona con mal pronóstico; esto ha sugerido que las anormalidades de la segregación cromosómica pueden contribuir a la progresión del tumor al aumentar la diversidad genética. Algunos científicos creen que la aneuploidía es un aspecto fundamental del cáncer.

Se está efectuando mucha investigación para determinar la base de la CIN y de la aneuploidía. Varios procesos diferen-

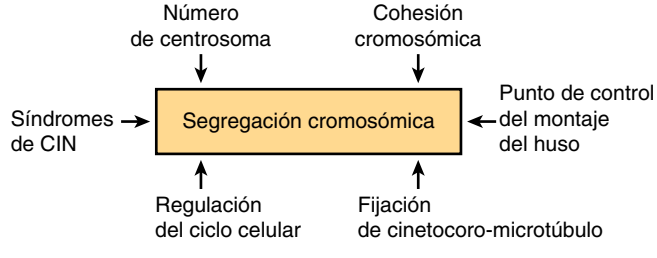


FIGURA 56-11 Algunos factores involucrados en la segregación cromosómica que son importantes para entender la inestabilidad cromosómica (CIN) y la aneuploidía. Los síndromes de CIN comprenden el síndrome de Bloom (OMIM 210900) y otros. (Basado en Thompson SL *et al.*: Mechanisms of chromosomal instability. Curr Biol 2010;20(6):R285).

tes están involucrados en la segregación cromosómica normal (**figura 56-11**). Cada uno de los procesos mostrados es complejo; comprende diversos orgánulos y muchas proteínas individuales. El lector encontrará los detalles sobre la división celular y la segregación cromosomal en un tratado de biología celular. Hay estudios en curso que buscan comparar estos procesos en células normales y tumorales, así como determinar cuáles de las diferencias detectadas pueden ser contribuidoras a CIN y aneuploidía. Una esperanza de esta línea de investigación es que tal vez sería posible crear fármacos que disminuyan CIN y aneuploidía o que incluso las eviten.

MUCHAS CÉLULAS CANCEROSAS MUESTRAN ACTIVIDAD ALTA DE TELOMERASA

Ha habido considerable interés en la participación de los telómeros (capítulo 35) en diversas enfermedades y en el envejecimiento. Respecto al cáncer, cuando las células tumorales se dividen con rapidez, sus telómeros a menudo se acortan. Esos telómeros (que por lo general se detectan en leucocitos debido a la facilidad con la cual se obtienen) han quedado implicados como un factor de riesgo para muchos tumores sólidos, si no es que para todos (p. ej., cáncer mamario). Los **telómeros cortos** parecen tener valor predictivo respecto a la progresión de enfermedades inflamatorias crónicas (como colitis ulcerosa y esófago de Barrett) hacia cáncer. Las anormalidades de la estructura de los telómeros y de la función de los mismos pueden contribuir a CIN (véase antes). La actividad de **telomerasa**, la principal enzima involucrada en la síntesis de telómeros, suele estar alta en células cancerosas, lo que proporciona un mecanismo para superar el acortamiento de telómero. Los inhibidores selectivos de la telomerasa se han considerado posibles fármacos para tratar cáncer, pero esto aún no se ha traducido en uso clínico exitoso.

EN VARIOS CÁNCERES HAY PREDISPOSICIÓN HEREDITARIA

Durante muchos años se ha sabido que ciertos cánceres tienen una base hereditaria; se estima que alrededor de 5% de los cánceres cae dentro de esta categoría. El descubrimiento de oncogenes y de genes supresores tumorales ha permitido investigaciones de la base de este fenómeno. Ahora se han reconocido muchos tipos de cáncer hereditario; en el **cuadro 56-10** se listan sólo algunos de éstos. En varios casos, cuando se sospecha un síndrome hereditario, la investigación genética apropiada de familias ha permitido hacer intervenciones tempranas. Por ejemplo, algunas mujeres jóvenes que han heredado un gen *BRCA1* o *BRCA2* mutado han elegido mastectomía profiláctica para prevenir cáncer de mama en etapas más avanzadas de la vida.

LA SECUENCIACIÓN DE GENOMA Y EXOMA ENTERO DE CÉLULAS TUMORALES ESTÁ PROPORCIONANDO NUEVA INFORMACIÓN RESPECTO AL CÁNCER

Desde que se completó el Human Genome Project hace unos 10 años, la tecnología de la secuenciación de DNA a gran escala y análisis bioinformático e interpretación de datos de secuencia han avanzado en forma considerable. La secuenciación de DNA a gran escala se ha hecho tanto más rápida como más económica. Estos avances han permitido análisis a gran escala de las secuencias de DNA de un gran número de tipos diferentes de tumores; dicha tarea se está abordando de dos maneras. La primera es secuenciar los genomas enteros y la segunda es secuenciar los exomas (capítulo 39) completos de diferentes tipos de tumor, junto con sus tejidos normales cognados. De esta manera,

CUADRO 56-10 Algunos padecimientos cancerosos hereditarios

Enfermedad	Gen	Principal función	Principal dato clínico
Poliposis adenomatosa del colon (OMIM 175100)	*APC*	Véase el cuadro 56-7	Formación de muchos pólipos adenomatosos de inicio temprano, que son precursores inmediatos de cánceres colorrectales
Cáncer mamario 1, inicio temprano (OMIM 113705)	*BRCA1*	Reparación de DNA	Alrededor de 5% de las mujeres en Norteamérica que padecen cáncer mamario porta mutaciones en este gen o en *BRCA2*. También aumenta considerablemente el riesgo de cáncer ovárico
Cáncer mamario 2, inicio temprano (OMIM 600185)	*BRCA2*	Reparación de DNA	Como se mencionó antes para el *BRCA1*. Las mutaciones en este gen también aumentan el riesgo de cáncer ovárico, pero en menor grado
Cáncer hereditario sin poliposis, tipo I (OMIM 120435)	*MSH2*	Reparación de errores de emparejamiento de DNA	Inicio temprano de cánceres colorrectales
Síndrome de Li-Fraumeni (OMIM 151623)	*P53*	Véase el cuadro 56-6	Un síndrome raro que comprende cánceres en diferentes sitios, que aparecen a una edad temprana
Neurofibromatosis, tipo 1 (OMIM 162200)	*NF1*	Codifica para la neurofibromina	Varía desde algunas manchas café con leche hasta la formación de miles de neurofibromas
Retinoblastoma (OMIM 180200)	*RB1*	Véase el cuadro 56-6	Retinoblastoma hereditario o esporádico[a]

[a] En el retinoblastoma hereditario, un alelo está mutado en la línea germinal y sólo se requiere una mutación subsiguiente para que se forme un tumor. En el retinoblastoma esporádico, ni uno ni otro alelo está mutado en el momento del nacimiento, de modo que se requieren mutaciones subsiguientes en ambos alelos.
Se han identificado muchos otros cánceres hereditarios.

pueden determinarse **catálogos integrales** de tipos y números específicos de **mutaciones de gen** que se encuentran en diferentes cánceres. Esa información con el tiempo revolucionará las **pruebas diagnósticas** y el desarrollo de **terapia a la medida**. En un estudio reciente se analizó la secuencia de los exomas de ~ 5 000 cánceres humanos entre 21 tipos de tumores diferentes, junto con controles tisulares normales. Puesto que muy pocos genes están mutados a magnitudes casi universales como *P53*, es importante identificar los genes de cáncer que están mutados a frecuencias más bajas, pero aún contribuyen de manera significativa a la oncogénesis. Al secuenciar estos 5 000 exomas de par tumor/normal para 21 tipos de tumor y efectuar análisis estadístico de los datos resultantes, se identificaron 33 genes asociados con cáncer previamente desconocidos. Las proteínas codificadas por estos 33 nuevos genes se relacionan con la estabilidad del genoma, regulación de gen epigenética/cromatina, evasión inmunitaria, proliferación, apoptosis, procesamiento de RNA y homeostasis de proteína (resultados congruentes con las funciones de estas proteínas en la transformación maligna [figuras 56-1 y 56-2]). Análisis estadísticos más detallados de los datos indican que la identificación casi completa de genes de cáncer, mediante secuenciación de exoma, puede alcanzarse con 600 a 5 000 muestras de cualquier tipo de tumor dado. El número absoluto de muestras analizadas dependerá de la tasa de mutación intrínseca en un tipo de tumor particular; un atributo que puede variar de manera notoria, como han mostrado otros estudios. Será en particular interesante identificar mutaciones en genes que causan cánceres y los aceleran; éstas se conocen como mutaciones **conductoras**, mientras que otras mutaciones reciben el nombre de **pasajeras**. Se espera que esta nueva información tenga repercusiones notorias sobre las siguientes etapas de la genómica del cáncer y, después, sobre el diagnóstico y la terapia del mismo.

Los resultados de un estudio reciente de carcinomas pancreáticos proporcionan un ejemplo fascinante de la información que puede brindar la secuenciación del genoma de cánceres, los cuales figuran entre los cánceres más mortíferos. Sin embargo, un tema que no se ha resuelto es si su letalidad se debe a su agresividad (capacidad para emitir metástasis y crecer) o a diagnóstico tardío. En el estudio bajo consideración, los genomas de siete cánceres pancreáticos primarios se secuenciaron, al igual que los genomas de metástasis de ellos obtenidas en la autopsia. En cada metástasis se detectaron alrededor de 61 mutaciones relacionadas con cáncer conocidas. Usando una técnica de "reloj molecular" que se tomó prestada de la biología evolutiva, se calculó cuánto tiempo requirieron las metástasis para acumular estas mutaciones; el conocimiento previo de la secuencia general de mutaciones hizo posible esto. Se estimó que se requirieron poco más de 10 años desde el momento de la mutación iniciadora para que se desarrollaran tumores primarios no metastásicos en el páncreas; pasaron otros cinco años para que esos tumores adquirieran potencial metastásico. A partir de entonces, transcurrieron unos dos años antes de que los tumores metastatizaran y sobreviniera la muerte. Así, se sugirió que la evolución de muchos cánceres pancreáticos es un proceso relativamente lento y que los cánceres pancreáticos no son muy agresivos, el problema es que son difíciles de diagnosticar. La esperanza es que métodos como la detección de mutaciones en células de cáncer pancreático presentes en especímenes de heces, la creación de nuevos biomarcadores sanguíneos para cánceres pancreáticos y quizá nuevas técnicas de obtención de imágenes permitirán el diagnóstico temprano, siempre un factor crucial en el manejo del cáncer.

LAS CÉLULAS CANCEROSAS TIENEN ANORMALIDADES DE LA APOPTOSIS QUE PROLONGAN SU CAPACIDAD PROLIFERATIVA

La **apoptosis** es un programa regulado por mecanismos genéticos que, cuando se activa, **causa muerte celular**. Los principales participantes son enzimas proteolíticas llamadas **caspasas**, que en circunstancias normales existen como **procaspasas** inactivas. El nombre caspasa refleja que son cisteína proteasas que dividen enlaces peptídicos en el extremo C terminal de residuos de aspartato. Se conocen alrededor de 15 caspasas de humano, aunque no todas participan en la apoptosis. Cuando las que están involucradas en la apoptosis (principalmente 2, 3, 6, 7, 8, 9 y 10) son activadas, participan en una **cascada** de eventos (compare con la cascada de la coagulación, capítulo 51) que finalmente mata las células por digestión de diversas proteínas y otras moléculas. Las caspasas **torrente arriba** (p. ej., 2, 8 y 10) al inicio de la cascada a menudo se llaman **iniciadoras** y las que están torrente abajo en el extremo de la vía (p. ej., 3, 6 y 7) se llaman **efectoras** o ejecutoras. La **DNasa activada por caspasa** (**CAD**) fragmenta DNA, lo que produce un patrón a manera de peldaños característico que se detecta mediante electroforesis. Las características microscópicas de la apoptosis comprenden condensación de la cromatina, cambios de la forma del núcleo y formación de vacuolas en la membrana. Las células muertas son desechadas con rapidez mediante actividad fagocítica, lo que evita una reacción inflamatoria.

La apoptosis difiere de la **necrosis**, una forma patológica de muerte celular que no está programada genéticamente. La necrosis ocurre en el momento de la exposición a agentes externos, como ciertas sustancias químicas y calor extremo (p. ej., quemaduras). Diversas enzimas hidrolíticas (proteasas, fosfolipasas, nucleasas, etc.) participan en la necrosis. La liberación del contenido celular a partir de células que están muriendo puede causar inflamación local, a diferencia de la apoptosis.

El proceso general de la apoptosis es complejo y es estrechamente regulado. Incluye proteínas que actúan como receptores, adaptadores, procaspasas y caspasas, y factores proapoptóticos y antiapoptóticos. Hay **vías extrínseca** e **intrínseca**; las **mitocondrias** son participantes importantes en la vía intrínseca.

En la **figura 56-12** se muestra un diagrama muy simplificado de algunos de los eventos clave en la apoptosis. Dos vías importantes están involucradas, la vía del receptor de muerte (extrínseca) y la vía mitocondrial (intrínseca).

Las principales características de la **vía del receptor de muerte** se muestran en el lado izquierdo de la figura. Las **señales externas** que inician la apoptosis comprenden el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) y ligando FAS. Se han identificado varios receptores de muerte. Son proteínas transmembrana y algunas interactúan con **proteínas adaptadoras** (como FADD). A su vez, estos complejos interactúan con la **procaspasa-8**, lo que da lugar

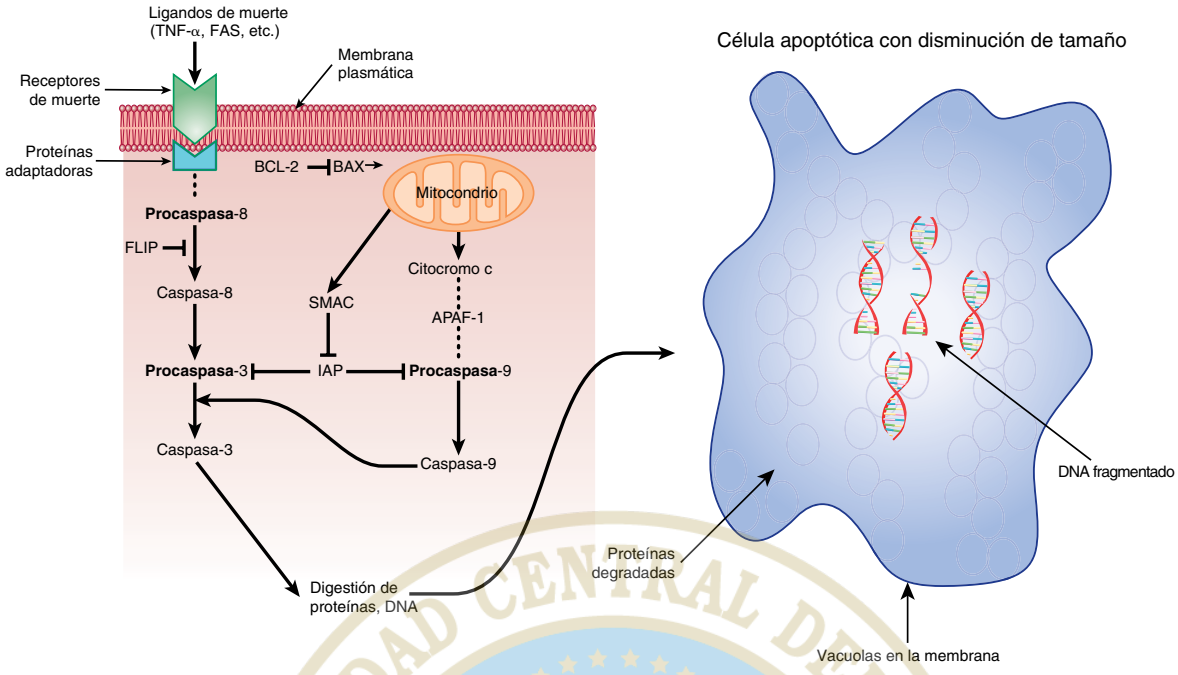


FIGURA 56-12 Esquema muy simplificado de la apoptosis. El lado izquierdo representa eventos importantes en la vía extrínseca. Las señales de muerte comprenden TNF-α y FAS (presentes en la superficie de linfocitos y algunas otras células). Las señales (ligandos) interactúan con receptores de muerte específicos (hay varios de ellos). A continuación, el receptor activado interactúa con una proteína adaptadora (FADD es una de varias de ellas) y después forma un complejo con la procaspasa 8. (El complejo es indicado mediante la línea punteada ··· entre el receptor y la procaspasa-8 en la figura). Por medio de una serie de pasos adicionales, se forma caspasa-3 activa, que es una efectora importante (ejecutora) de daño celular. La regulación de la vía extrínseca puede ocurrir debido a efecto inhibidor de FLIP sobre la conversión de procaspasa-8 en caspasa-8, y al efecto inhibidor de IAP sobre la procaspasa-3. El lado derecho representa eventos importantes en la vía intrínseca (mt). Diversos estreses celulares afectan la permeabilidad de la membrana externa mt, lo que da por resultado flujo de salida de citocromo c hacia el citoplasma. Esto forma un complejo multiproteínico con APAF-1 y procaspasa-9, llamado un apoptosoma. Por medio de estas interacciones, la procaspasa-9 es convertida en caspasa-9 y ésta, a su vez, puede actuar sobre la procaspasa-3 para convertirla en su forma activa. La regulación de la vía intrínseca puede ocurrir en el ámbito de BAX, que facilita permeabilidad mt creciente, lo que permite el flujo de salida de citocromo c y, así, es proapoptótica. BCL-2 se opone a este efecto de BAX y, de este modo, es antiapoptótico. La IAP también inhibe la procaspasa-9, y este efecto de la IAP puede ser superado por SMAC. (APAF-1, factor activador de proteasa apoptótica-1; BAX, proteína X relacionada con BCL-2; BCL-2, CLL/linfoma de células B 2 (CLL representa leucemia linfocítica crónica); FADD, dominio de muerte asociado a FAS; FAS, antígeno FAS; FLICE, ICE parecida a FADD; FLIP, proteína inhibidora de FLICE; IAP, inhibidor de proteínas de la apoptosis; ICE, interleucina 1-β convertasa; SMAC, segundo activador de caspasa derivado de mitocondrias). ⊣ significa que se opone a la acción de.

a su conversión en **caspasa-8** (una iniciadora). La **caspasa-3** (una efectora) es activada por medio de una serie de reacciones adicionales. Digiere proteínas estructurales importantes, como la lamina (esto se asocia con condensación nuclear), diversas proteínas del citoesqueleto, y enzimas involucradas en la reparación del DNA, lo que causa muerte celular.

La regulación de esta vía ocurre a varios niveles. La **FLIP** inhibe la conversión de procaspasa-8 en su forma activa. Los **inhibidores de la apoptosis** (**IAP**) inhiben la conversión de procaspasa-3 en su forma activa. Tales efectos pueden superarse mediante la proteína **SMAC** (segunda mitocondrial derivada del activador de caspasa), que se libera a partir de mitocondrias.

La **vía mitocondrial** puede iniciarse mediante exposición a especies de oxígeno reactivas, daño de DNA y otros estímulos. Esto da por resultado la formación de poros en la membrana mitocondrial externa, a través de los cuales escapa **citocromo c** hacia el citoplasma. En el citoplasma, el citocromo c interactúa con **APAF-1**, **procaspasa-9** y **ATP** para formar un complejo multiproteínico conocido como un **apoptosoma**. Como resultado de esta interacción, la **procaspasa-9** es convertida en su forma activa y, a su vez, actúa sobre la **procaspasa-3** para producir **caspasa-3**.

En cuanto a la **regulación**, la activación del **gen *P53*** regula en dirección ascendente la transcripción de ***BAX.*** El **BAX** es un proapoptótico, por cuanto causa pérdida del potencial de la membrana mitocondrial, lo que ayuda a iniciar la vía apoptótica mitocondrial. Por otro lado, **BCL-2** inhibe la pérdida del potencial de membrana y, así, es antiapoptótico. Los **IAP** inhiben la conversión de procaspasa-9 en caspasa-9; el **SMAC** puede superar esto.

Note que en la vía de muerte se usa **caspasa-8** como iniciadora, mientras que en la vía mitocondrial se usa **caspasa-9**, esas dos vías pueden interactuar. Además, también hay otras vías de apoptosis que no se comentan aquí.

Las células cancerosas evaden la apoptosis

Las **células cancerosas** han desarrollado mecanismos para evadir la apoptosis y así, de continuar su crecimiento y división. En general, éstas dependen de mutaciones que causan pérdida de función de proteínas que son proapoptóticas o de sobreexpresión de genes antiapoptóticos. Un ejemplo de ese tipo se refiere a la pérdida de la función del gen *P53*, quizás el gen más comúnmente mutado en cánceres. La pérdida resultante de la regulación

ascendente de *BAX* proapoptótica (véase antes) cambia el equilibrio a favor de proteínas antiapoptóticas. La sobreexpresión de muchos genes antiapoptóticos es un dato frecuente en cánceres. La evasión resultante de apoptosis favorece el crecimiento continuo de cánceres. Se está intentando crear fármacos u otros compuestos que activen de manera específica la apoptosis en células cancerosas, lo cual terminaría su lapso de vida.

Como se indicó, la apoptosis es una vía compleja, multirregulada, con muchos participantes, no todos los cuales se mencionan en esta exposición simplificada. La apoptosis también está involucrada en diversos procesos vinculados con el desarrollo y fisiológicos. Quizá parezca paradójico, pero la muerte celular regulada tiene tanta importancia en el mantenimiento de la salud como la formación de nuevas células. Además del cáncer, la apoptosis está implicada en otras enfermedades, incluso ciertos trastornos neurológicos autoinmunitarios y crónicos, como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, en las cuales la **muerte celular excesiva** (más que el crecimiento excesivo) es una característica.

El **cuadro 56-11** resume algunas de las principales características de la apoptosis.

Efectos proinflamatorio y promotor tumoral de la necrosis

A diferencia de la apoptosis, la necrosis de tejido da lugar a la liberación de contenido intracelular hacia su microambiente circundante. Esto incluye mediadores proinflamatorios, que dan por resultado la infiltración del tejido por células inflamatorias inmunitarias. Ya se ha mostrado que esas células pueden tener efectos promotores tumorales activos. Se ha reportado que células inflamatorias inmunitarias promueven la angiogénesis, la proliferación celular y la invasividad. De este modo, la necrosis, que parece contrarrestar la tendencia proliferativa de células cancerosas puede, paradójicamente, beneficiar la tumorigénesis. Así, los tumores en desarrollo parecen ganar, por tolerancia de cierto grado de necrosis celular, porque esto da por resultado reclutamiento de células inflamatorias que abastecen a las células tumorales de factores promotores de crecimiento.

MECANISMOS EPIGENÉTICOS ESTÁN INVOLUCRADOS EN EL CÁNCER

Cada vez se tiene más evidencia de que hay mecanismos epigenéticos (capítulo 36) involucrados en el origen del cáncer; dichos mecanismos producen cambios no mutacionales que afectan la regulación de la expresión de genes. La metilación de bases citocina específicas en genes está implicada en desactivación de las actividades de ciertos genes. En células cancerosas se han detectado cambios desde lo normal en la metilación/desmetilación de residuos citocina en genes específicos. Las modificaciones postraduccionales de histonas, como acetilación, metilación, fosforilación y ubiquitinación, también afectan la expresión de gen. En células cancerosas se han encontrado cambios de la acetilación de histonas H3 y H4, que afectan la transcripción de gen. Las mutaciones que afectan las estructuras de complejos proteínicos (p. ej., los complejos SW1/SNF) involucrados en el remodelado de cromatina también pueden afectar la transcripción de gen. De hecho, varios de los componentes de los complejos SW1/SNF pueden actuar como genes supresores tumorales. En la **figura 56-13** se resumen algunos de estos puntos acerca de la epigenética.

Un tema de particular interés respecto a los cambios epigenéticos es que muchas de estas modificaciones postraduccionales y modificaciones del DNA son en potencia reversibles. A este respecto, la **5-azadeoxicitidina** y la **decitabina** son inhibidores de las **DNA metiltransferasas (DNMT)**, mientras que el ácido **valproico** y el **vorinostat** actúan para inhibir las **histona desacetilasas (HDAC)**. Estos dos agentes se han usado para tratar ciertos tipos de leucemias y linfomas, y se cree que funcionan

CUADRO 56-11 Resumen de algunas características importantes respecto a la apoptosis

- Comprende una serie de eventos programados genéticamente y difiere de la necrosis
- Toda la serie de reacciones es una cascada, similar a la coagulación de la sangre
- Se caracteriza por disminución del volumen de la célula, vacuolización de la membrana, ausencia de inflamación y un patrón específico (a manera de peldaños) de degradación del DNA
- Muchas caspasas (proteinasas) están involucradas; algunas son iniciadoras y otras efectoras (ejecutoras)
- Hay vías tanto externa como interna del mitocondria
- FAS y otros receptores están involucrados en la vía del receptor de muerte (externa) de la apoptosis
- El estrés celular y otros factores activan la vía mt; la liberación de citocromo c hacia el citoplasma es un evento importante en esta vía
- La apoptosis está regulada por un equilibrio entre inhibidores (antiapoptóticos) y activadores (proapoptóticos)
- Las células cancerosas han adquirido mutaciones que les permiten evadir la apoptosis, lo que promueve la proliferación celular cancerosa, al menos de manera indirecta

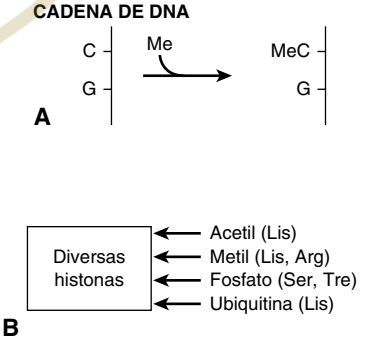


FIGURA 56-13 Algunos factores involucrados en la epigenética. **A)** Metilación de citocina para formar 5 metilcitocina. La citocina por lo general está ubicada cerca de un residuo guanina, lo que forma una isla CpG. La metilación de citocina por una metiltransferasa se asocia con silenciamiento de las actividades de ciertos genes. **B)** Modificaciones postraduccionales de diversas histonas. Residuos específicos en histonas específicas son modificados por diversas enzimas, lo cual cambia las conformaciones y las actividades de las histonas modificadas. Por ejemplo, la acetilación de lisinas N terminal en ciertas histonas se asocia con abertura de la cromatina y con aumento de la transcripción de ciertos genes. **C)** Remodelado de cromatina: véanse las figuras 36-10, 38-8 y 38-9.

al desreprimir la transcripción de ciertos genes reguladores del crecimiento, como supresores tumorales.

El uso creciente de **técnicas de investigación** para estudiar cambios epigenéticos (p. ej., análisis del metiloma [la suma total de modificaciones por metilación en el genoma]) en más tipos de cánceres tiene probabilidades de contribuir considerablemente al conocimiento en esta área.

HAY MUCHO INTERÉS POR LA FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE EN EL CÁNCER

Las células madre se comentan brevemente en los capítulos 39 y 52. Muchos científicos están investigando la implicación de las células madre en el cáncer. Se cree que las células madre cancerosas albergan mutaciones que, sea por sí mismas o en colaboración con mutaciones adicionales, hacen cancerosas estas células. Es factible detectar células madre mediante el uso de marcadores de superficie específicos, u otras técnicas. Parece ser que los tejidos circundantes (p. ej., componentes de la matriz extracelular) pueden influir de manera importante sobre la conducta de estas células. Un concepto importante que impulsa parte de la investigación en esta área es la creencia de que una de las razones por las cuales la quimioterapia del cáncer a menudo fracasa es que existe **un fondo común de células madre cancerosas** que no es susceptible a la quimioterapia convencional. Las razones de esto incluyen los hechos de que muchas células madre son relativamente latentes, tienen sistemas de reparación de DNA activos (figura 35-23), expresan transportadores de fármacos que pueden expulsar fármacos anticáncer y a menudo muestran resistencia a la apoptosis.

Cada vez hay más evidencia de que las células madre cancerosas de hecho tienen funciones clave en muchos tipos de neoplasias. De ser así, el desarrollo de terapias con especificidad alta para matar estas células resultará en extremo valioso.

LOS TUMORES A MENUDO ESTIMULAN LA ANGIOGÉNESIS

Las células tumorales necesitan un aporte sanguíneo suficiente que les proporcione nutrientes para su supervivencia. Se ha encontrado que tanto las células tumorales como las células de los tejidos que rodean a tumores **secretan factores angiogénicos** que estimulan el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos. La angiogénesis tumoral ha despertado mucho interés, en parte porque si pudiera inhibirse de manera específica, esto podría proporcionar un método selectivo para matar células tumorales.

El crecimiento de vasos sanguíneos que riegan células tumorales puede ser estimulado por **hipoxia** u otros factores. La hipoxia causa concentraciones altas de **factor inducible por hipoxia-1** (**HIF-1**) que, a su vez, incrementa la concentración de **factor de crecimiento del endotelio vascular** (**VEGF**), un estimulante importante de la angiogénesis. Se han identificado alrededor de cinco tipos de VEGF (VEGF-A a VEGF-E) y casi todo el interés se enfoca en el VEGF-A. Las proteínas VEGF interactúan con receptores de tirosina cinasa específicos sobre células endoteliales y linfáticas. Estos receptores, por medio de vías de señalización, causan regulación ascendente de la vía del NF-κB (capítulo 50), lo que da lugar a proliferación de células endoteliales y formación de nuevos vasos sanguíneos. Los vasos sanguíneos que riegan tumores no son normales; su estructura suele estar desorganizada, y son mucho más débiles que los vasos sanguíneos normales. Moléculas que no son VEGF, como la angiopoyetina, el factor de crecimiento de fibroblastos-beta (β-TGF), TGF-α y factor de crecimiento placentario, también estimulan la angiogénesis. Algunas otras moléculas también inhiben el crecimiento de vasos sanguíneos (p. ej., angiogenina y endostatina).

Se han desarrollado **anticuerpos monoclonales (mAb)** contra el VEGF-A (p. ej., bevacizumab o Avastatin), y se han usado en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer (p. ej., colon y mama). Estos mAb se unen al VEGF y bloquean su acción, probablemente al bloquear la interacción entre el VEGF y el receptor de VEGF. Se encontró que estos mAb terapéuticos aumentan la supervivencia general del paciente, pero la mayoría de los pacientes finalmente presentó recaída. Al igual que con otras terapias antineoplásicas, ahora se cree que estos mAb se usan mejor en combinación con otras terapias anticáncer. También se están desarrollando anticuerpos monoclonales contra otros factores de crecimiento que estimulan la angiogénesis y se encuentran en estudios clínicos, al igual que inhibidores de molécula pequeña de la angiogénesis. Los inhibidores de la angiogénesis son útiles en ciertas combinaciones, como degeneración macular "húmeda", o relacionada con la edad, y retinopatía diabética, en la cual la proliferación de vasos sanguíneos es una característica.

LAS METÁSTASIS SON EL ASPECTO MÁS GRAVE DEL CÁNCER

Se ha estimado que alrededor de **85% de la mortalidad** asociada con cáncer se produce por metástasis. El cáncer por lo general se disemina por medio de vasos linfáticos o sanguíneos. Las metástasis son un proceso complejo, y queda por elucidar su base molecular.

En la **figura 56-14** se presenta un esquema modificado de las metástasis. El evento más temprano es el **desprendimiento** de células tumorales desde el tumor primario. Las células pueden tener acceso entonces a la circulación (o a linfáticos), proceso que se denomina **intravasación**. Una vez en la circulación, tienden a **detenerse** en el lecho capilar pequeño más cercano. En ese sitio, se **extravasan** y **migran** a través de la matriz extracelular (ECM) vecina, antes de encontrar un sitio para establecerse. A partir de entonces, si sobreviven a los mecanismos de defensa del huésped, crecen a tasas variables. Para asegurar el crecimiento, las células metastásicas necesitan suficiente riego sanguíneo.

Muchos estudios han demostrado que las células cancerosas tienen un complemento anormal de proteínas en su superficie celular; estos cambios pueden permitir adhesión celular disminuida y que células individuales se desprendan del cáncer original. Las moléculas sobre superficies celulares involucradas en la adhesión celular se llaman **moléculas de adhesión celular** (**CAM**) (**cuadro 56-12**). Decrementos de las cantidades de **E-cadherina**, una molécula de gran importancia en la adhesión de muchas células normales, pueden ayudar a explicar la agresividad disminuida de muchas células cancerosas. En muchos estu-

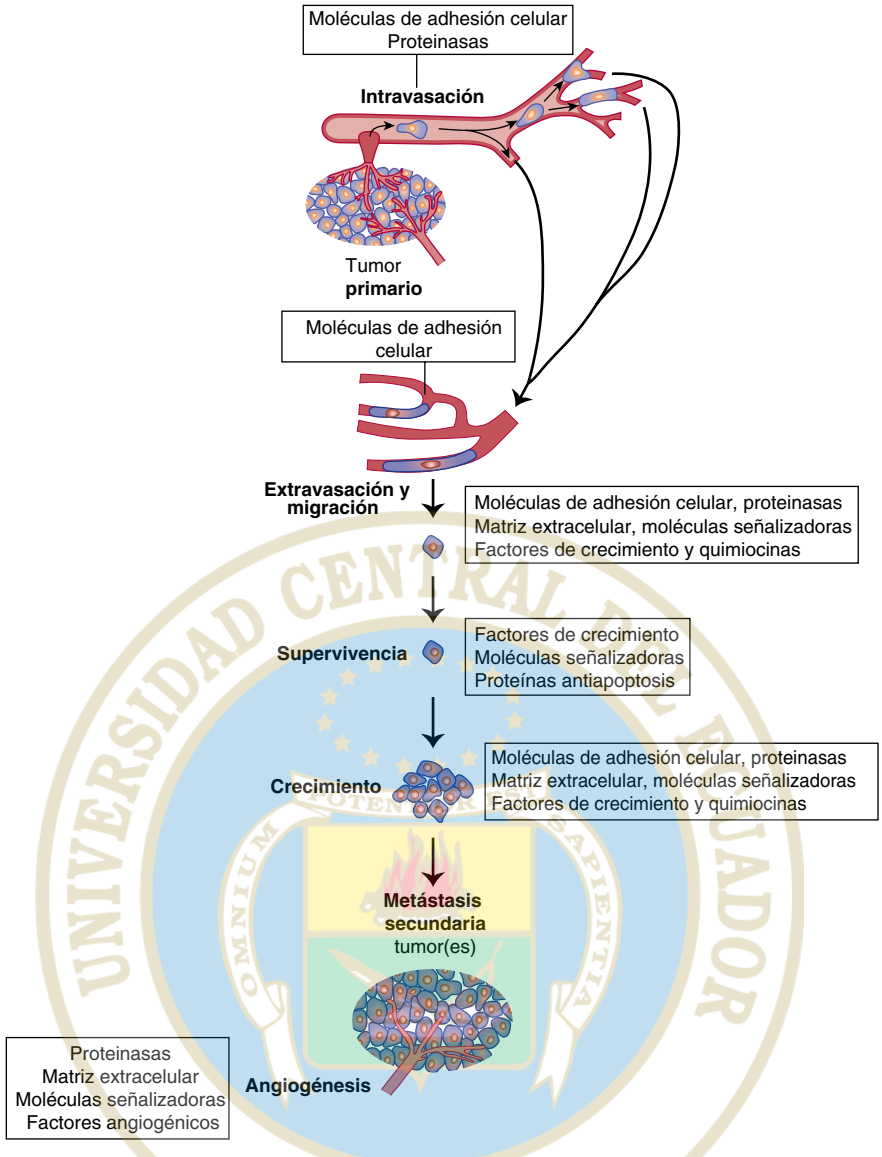


FIGURA 56-14 **Esquema simplificado de las metástasis.** Representación esquemática de la secuencia de pasos en las metástasis, que indica algunos de los factores que se cree que están involucrados. (Tomado de Tannock IF, *et al*: *The Basic Science of Oncology*. 4th ed. McGraw-Hill, 2005).

dios se han mostrado cambios de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas de superficie celular, debido a actividad alterada de diversas glucosiltransferasas (capítulo 47). Un cambio importante es un aumento de la actividad de la GlcNAc transferasa V; esta enzima cataliza la transferencia de GlcNAc a una cadena de oligosacárido en crecimiento, lo que forma un enlace β1→6 y permite el crecimiento adicional de la cadena. Se ha propuesto que esas cadenas alargadas participan en un enrejado de glucano alterado en la superficie celular. Esto puede causar reorganización estructural de receptores y otras moléculas, lo que tal vez predispone a la diseminación de células cancerosas.

Una propiedad importante de muchas células cancerosas es que pueden liberar diversas **proteinasas** hacia la ECM. De las cuatro clases principales de proteinasas (serina, cisteína, aspartato y metalo), se ha enfocado particular interés en las **matrices metaloproteinasas** (**MP**) que constituyen una familia muy grande de enzimas dependientes de metal (por lo general cinc). En varios estudios se ha mostrado actividad aumentada de MP en tumores, como MP-2 y MP-9 (también conocidas como gelatinasas) en tumores; dichas enzimas tienen la capacidad de degradar proteínas en la membrana basal y en la ECM, como colágeno y otras, lo que facilita la diseminación de células tumorales. Se han creado inhibidores de estas enzimas, pero hasta ahora éstos no han tenido éxito clínico alguno.

Un factor que permite movimiento aumentado de células cancerosas es la **transición mesenquimatosa epitelial** o **EMT**; éste es un cambio de la morfología y la función celulares desde tipo epitelial hacia tipo mesenquimatoso, tal vez inducido por factores de crecimiento. El tipo mesenquimatoso tiene más filamentos de actina, lo que permite movimiento aumentado, una propiedad esencial de las células que metastatizan.

La **matriz extracelular (ECM)** desempeña un papel importante en las metástasis. Hay evidencia de comunicación mediante mecanismos de señalización entre células cancerosas y células de

CUADRO 56-12 Algunas moléculas de adhesión celular (CAM) importantes

- Cadherinas
- Superfamilia de la inmunoglobulina (Ig) (CAM Ig)
- Integrinas
- Selectinas

Nota: Las CAM pueden ser homofílicas o heterofílicas. Las CAM homofílicas interactúan con moléculas idénticas en células vecinas, mientras que las CAM heterofílicas interactúan con diferentes moléculas. Las cadherinas son homofílicas, las selectinas e integrinas son heterofílicas y las CAM Ig pueden ser una u otra. Las integrinas se comentan brevemente en el capítulo 52 y las selectinas en el capítulo 46.

la ECM. Los tipos de células en la ECM también pueden causar metástasis. Como se mencionó, las proteinasas que degradan proteínas en la ECM pueden facilitar la diseminación de células cancerosas. Además, la ECM contiene diversos factores de crecimiento que pueden influir sobre la conducta del tumor.

Durante su desplazamiento por el organismo, las células tumorales quedan expuestas a diversas células del sistema inmunitario (como células T, células NK y macrófagos) y deben tener la capacidad de sobrevivir a la exposición a ellas. Algunas de estas células de vigilancia secretan diversas **quimocinas**, proteínas pequeñas que pueden atraer diversas células, como leucocitos, lo que en ocasiones causa una respuesta inflamatoria a las células tumorales.

Se ha estimado que sólo alrededor de 1:10 000 células puede tener la capacidad genética para colonizar exitosamente. Ciertas células tumorales muestran predilección a metastatizar hacia órganos específicos (p. ej., las células prostáticas hacia hueso); moléculas de superficie celular específicas quizás estén involucradas en este tropismo.

En varios estudios se ha mostrado que ciertos genes aumentan las metástasis, mientras que otros actúan como genes supresores de metástasis. Determinar la manera exacta en que estos genes funcionan es el tema bajo intenso estudio. El **cuadro 56-13** resume algunos puntos importantes respecto a las metástasis.

CUADRO 56-13 Importantes características de las metástasis

- A menudo se encuentra una transición de células epiteliales-mesenquimatosas en cánceres, lo que permite movimiento aumentado de células en potencia metastásicas
- La metástasis es relativamente ineficiente (sólo alrededor de 1:10 000 células tumorales puede tener potencial genético para colonizar)
- Las células metastásicas deben evadir diversas células del sistema inmunitario para sobrevivir
- Están involucrados cambios en las moléculas de superficie celular (p. ej., CAM y otras)
- La actividad de proteinasa aumentada (p. ej., MP-2 y MP-9) facilita la invasión
- Se ha mostrado la existencia de genes aumentadores y supresores de metástasis
- Algunas células cancerosas metastatizan de preferencia hacia órganos específicos
- Pueden detectarse firmas de gen de metástasis mediante el análisis de transcriptoma/exoma; esa información sobre el transcriptoma puede ser de valor pronóstico, lo que en potencia permite tratamiento terapéutico personalizado

Abreviaturas: CAM, molécula de adhesión celular; MP, metaloproteinasa.

LAS CÉLULAS CANCEROSAS MUESTRAN PROGRAMACIÓN METABÓLICA ALTERADA

Muchos aspectos del metabolismo de las células cancerosas (p. ej., de carbohidratos, lípidos, aminoácidos y ácidos nucleicos) se están estudiando intensivamente debido al hecho de que ahora se han observado de manera reproducible cambios en el metabolismo en casi todas las células cancerosas. Este hecho, junto con estudios de secuenciación de DNA de exoma a gran escala recientes (véase antes) que muestran que los genes codificadores de proteína metabólica (y genes relacionados) comúnmente están mutados en los 21 diferentes tipos de tumor comunes analizados, han revitalizado la investigación sobre el metabolismo en general, y sobre el metabolismo de células cancerosas en particular.

La glucosa y el aminoácido glutamina son dos de los metabolitos más abundantes en el plasma, y juntos explican gran parte del metabolismo del carbono y el nitrógeno en células humanas. En 1924, el bioquímico Otto Warburg y sus colegas hicieron el descubrimiento de que las células cancerosas captan grandes cantidades de glucosa y la metabolizan a ácido láctico, incluso en presencia de oxígeno. Esta observación se denominó el **efecto Warburg**. Con base en estos datos, Warburg emitió dos hipótesis: en primer lugar, que la proporción aumentada entre glucólisis y respiración aeróbica probablemente se debió a defectos de la cadena respiratoria mitocondrial y, en segundo lugar, que esta glucólisis aumentada permitió a las células cancerosas proliferar de preferencia en la tensión de oxígeno reducida que a menudo se observa en los tumores. Además, Warburg arguyó que la conmutación de metabolismo de glucosa desde aeróbico a anaeróbico fue un/el impulsor de carcinogénesis.

Aun así, investigación reciente ha mostrado que más que defectos manifiestos en las mitocondrias, la respiración mitocondrial reprogramada que se observa típicamente en células tumorales es un efecto directo de al menos dos clases de influencias. En primer lugar, la señalización autosostenible de factor de crecimiento proliferativo característica de células cancerosas (figuras 56-1 y 56-2), y en segundo lugar, cambios genéticos en genes codificadores de enzimas metabólicas específicos y otros genes. Estos cambios genéticos incluyen expresión preferente de ciertas variantes en palmadas de mRNA (piruvato cinasa/*PKM*, fosfofructocinasa/ *PFKFB3*, glutaminasa/*GLS*); amplificación de genes que codifican para enzimas particulares (hexocinasa II/ *HXK2*, ácido graso sintasa/*FASN*, fosfoglicerato deshidrogenasa/ *PHGDH*); eficiencias y especificidades catalíticas alteradas (isocitrato deshidrogenasa 1 y 2/ *IDH*, *IDH2*) y productos metabólicos (las enzimas IDH normalmente producen α-cetoglutarato, pero las enzimas IDH1 y/o IDH2 mutadas producen 2-hidroxiglutarato, o 2HG) y el efecto que esos "oncometabolitos" (esto es, 2HG) tienen sobre el control epigenético de la expresión de gen (metilación de DNA y de proteína histona). Esa **reprogramación de enzimas metabólicas** finalmente conduce a menos transborde de energía química derivada de glucosa hacia la produc-

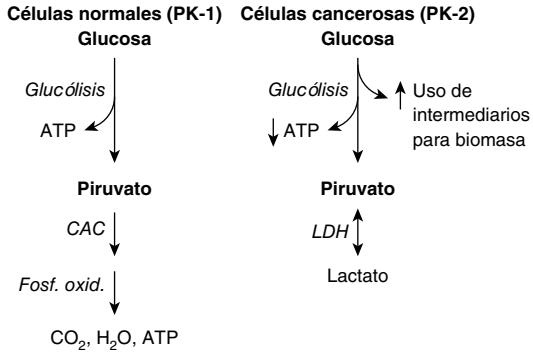


FIGURA 56-15 Isozimas de la piruvato cinasa y glucólisis en células normales y células cancerosas. En células normales, la principal fuente de ATP es la fosforilación oxidativa. Se obtiene algo de ATP a partir de la glucólisis. La principal isozima de la piruvato cinasa (PK) en células normales es la PK-1. En células cancerosas, la glucólisis aeróbica es prominente; se produce ácido láctico por medio de la acción de la lactato deshidrogenasa (LDH) y la producción de ATP a partir de la fosforilación oxidativa está disminuida (no se muestra en la figura). En células cancerosas, la PK-2 es la principal isozima de la PK. Por razones complejas que todavía no se entienden por completo, este cambio del perfil de isozima en células cancerosas se asocia con decremento de la producción neta de ATP a partir de la glucólisis, pero uso aumentado de metabolitos para construir biomasa. (CAC, ciclo del ácido cítrico; Fosf. oxid., fosforilación oxidativa).

ción de ATP (**figura 56-15**), con un cortocircuito concomitante de energía química de glucosa para construcción de la biomasa celular de proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, etc. Estas macromoléculas esenciales son esenciales para la proliferación celular (en este caso, proliferación de células cancerosas). En conjunto, estas observaciones ofrecen una explicación para la ventaja selectiva observada conferida sobre células tumorales al tener una tasa alta de glucólisis.

Dados estos datos, un método promisorio actual es analizar sangre y orina mediante espectrometría de masa para buscar alteraciones del perfil de metabolitos, que puedan ayudar a detectar cáncer a una etapa temprana.

A pesar de la angiogénesis, muchos tumores sólidos tienen áreas localizadas de **riego sanguíneo inadecuado** y, así, muestran tasas altas de **glucólisis anaeróbica**; esto lleva a producción excesiva de ácido láctico y **acidosis** local. Se ha postulado que la producción local de ácido tal vez permita a las células tumorales invadir con mayor facilidad. La **tensión de oxígeno baja** en áreas de tumores con riego sanguíneo inadecuado estimula la formación de **factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1)**. Este factor de transcripción, cuya actividad se despierta por tensión de oxígeno baja, regula en dirección ascendente (entre otras acciones) las actividades de al menos ocho genes que controlan la síntesis de enzimas glucolíticas.

El **pH** y la **tensión de oxígeno** en tumores son factores importantes que afectan las acciones de fármacos anticáncer y otros tratamientos. Por ejemplo, la eficacia anticáncer de la radioterapia de cánceres es significativamente más baja en condiciones de hipoxia. Se han creado sustancias químicas para **inhibir la glucólisis** en células tumorales, y quizá matarlas de manera selectiva (**cuadro 56-14**). Incluyen **3-bromopiruvato** (un inhibidor de HK-2) y **2-desoxi-D-glucosa** (un inhibidor de HK-1). Otro compuesto, el **dicloroacetato** (DCA), inhibe la actividad de la piruvato deshidrogenasa cinasa y, así, estimula la actividad de la piruvato deshidrogenasa (capítulo 18), lo que desvía el sustrato desde glucólisis hacia el ciclo del ácido cítrico. Hasta ahora, ninguna de éstas ha llegado a tener gran uso clínico; quizá derivados de segunda generación de estas moléculas o de otras, que establecen como objetivo el metabolismo resultarán eficaces en humanos como fármacos antitumorales.

CUADRO 56-14 Algunos compuestos que inhiben la glucólisis y que se ha encontrado que muestran actividad anticáncer variable

Compuesto	Enzima inhibida
3-Bromopiruvato	Hexocinasa II
2-Desoxi-D-glucosa	Hexocinasa I
Dicloroacetato	Piruvato deshidrogenasa cinasa
Yodoacetato	Gliceraldehído fosfato deshidrogenasa

Nota: La lógica para la creación de estos agentes es que la glucólisis por lo general es mucho más activa en células tumorales, de modo que inhibirla puede dañarlas más que a las células normales. La inhibición de la PDH cinasa da lugar a estimulación de la PDH, lo que desvía el piruvato de la glucólisis.

LOS BIOMARCADORES TUMORALES PUEDEN MEDIRSE EN MUESTRAS DE SANGRE

Las pruebas bioquímicas a menudo son útiles en el manejo de pacientes con cáncer (p. ej., algunos pacientes con cánceres avanzados pueden tener concentración plasmática alta de calcio, que puede causar problemas graves si no se atiende). Muchos cánceres se asocian con producción anormal de enzimas, proteínas y hormonas que pueden medirse en el plasma o el suero. Estas moléculas se conocen como **biomarcadores tumorales.** En el **cuadro 56-15** se listan algunas de ellas.

CUADRO 56-15 Algunos biomarcadores tumorales útiles medibles en sangre

Biomarcador tumoral	Cáncer asociado
Alfa-fetoproteína (AFP)	Carcinoma hepatocelular, tumor de células germinales
Calcitonina (CT)	Tiroideo (carcinoma medular)
Antígeno carcinoembrionario (CEA)	Colon, pulmón, mama, páncreas, ovario
Gonadotropina coriónica humana (hCG)	Enfermedad trofoblástica, tumor de células germinales
Inmunoglobulina monoclonal	Mieloma
Antígeno específico para próstata (PSA)	Próstata

Nota: Casi todos estos biomarcadores tumorales también se encuentran en niveles elevados en la sangre de pacientes con enfermedades no cancerosas. Por ejemplo, el CEA está alto en diversos trastornos gastrointestinales no cancerosos, lo mismo que el PSA en la prostatitis y en la hiperplasia prostática benigna. Ésa es la razón por la cual los resultados altos de marcadores tumorales deben interpretarse con precaución, y por la cual sus principales usos son dar seguimiento a la eficacia de tratamientos y a recurrencias. También se dispone de varios otros biomarcadores tumorales que se usan bastante ampliamente.

Sin embargo, en diversas **enfermedades no cancerosas** también hay aumentos importantes de algunos de los biomarcadores listados en el cuadro 56-15. Por ejemplo, la concentración alta de **antígeno específico para próstata** (**PSA**), una glucoproteína sintetizada por células de la próstata, no sólo se encuentra en pacientes con cáncer de próstata, sino también en pacientes con prostatitis o **hiperplasia prostática benigna (BPH)**. De modo similar, los aumentos del **antígeno carcinoembrionario** (**CEA**) no sólo se encuentran en pacientes con diversos tipos de cáncer, sino también en fumadores profusos y personas con colitis ulcerosa y cirrosis. El hecho de que los aumentos de biomarcadores tumorales por lo general no son específicos para cáncer ha significado que la medición de casi todos ellos no se usa de manera primaria para el diagnóstico de cáncer. Los principales usos han sido para dar seguimiento a la eficacia de tratamientos y para detectar recurrencia temprana. El uso de CEA en el manejo de un paciente con cáncer colorrectal se comenta brevemente en el capítulo 57, caso 4. Al igual que con otras pruebas de laboratorio (capítulo 56), cuando se interpreten los resultados de mediciones de biomarcadores tumorales debe considerarse el cuadro clínico completo.

Se espera que análisis **proteómicos** en proceso de líquidos corporales y células cancerosas accesibles proporcionarán nuevos **biomarcadores tumorales** de sensibilidad y especificidad aumentadas, y los capaces de alertar respecto a la presencia de cánceres a una etapa temprana de su desarrollo.

Análisis de secuenciación de transcriptoma y de genoma entero (capítulo 39) de células cancerosas han revelado muchísimos biomarcadores de oncogénesis en potencia muy útiles. Estos métodos también son útiles en la subclasificación más precisa de tumores (llamada "medicina personalizada"; capítulo 39) para proporcionar diagnósticos más exactos y guiar modos de terapia más eficaces. Esos métodos de diagnóstico molecular se están haciendo el estándar de cuidado para un subgrupo seleccionado de cánceres. Por último, a este respecto, un nuevo resultado en particular promisorio fue que análisis de secuencia de DNA, de DNA extraído de 5 mL de sangre obtenidos de pacientes con cáncer pudo detectar con exactitud DNA tumoral en 50 a 75% de 640 pacientes con múltiples tipos de tumores. Se trata de un área de los análisis de laboratorio y de la oncología que se está expandiendo con rapidez (véase más adelante).

EL CONOCIMIENTO DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA CARCINOGÉNESIS HA LLEVADO A LA CREACIÓN DE NUEVAS TERAPIAS

Una de las grandes esperanzas de la investigación del cáncer es que revelar los mecanismos fundamentales involucrados en el cáncer llevará a terapia nueva y mejor. Esto ya ha ocurrido hasta cierto grado y se espera que avances continuos aceleren este proceso.

Los quimioterápicos clásicos comprenden agentes alquilantes, complejos de platino, antimetabolitos, venenos del huso y otros, los cuales no se comentan aquí.

Entre las clases de fármacos creadas en fecha más reciente figuran los inhibidores de la transducción de señal (incluso inhibidores de la tirosina cinasa), anticuerpos monoclonales dirigidos contra diversas moléculas blanco, inhibidores de receptores de hormona, fármacos que afectan la diferenciación, agentes antiangiogénesis y modificadores de la respuesta biológica. En el **cuadro 56-16** se listan ejemplos de cada uno de éstos.

CUADRO 56-16 Algunos agentes anticáncer que se basan en avances recientes del conocimiento de los aspectos biológicos del cáncer

Clase	Ejemplo	Usado para tratar
Inhibidores de la transducción de señal	Imatinib, un inhibidor de la tirosina cinasa	CML
Anticuerpos monoclonales	Trastuzumab, un Mab contra el receptor HER2/Neu	Cáncer mamario en estadio tardío
Agentes antiangiogénesis	Bevacizumab, un Mab contra VEGF A	Cánceres de colon y mama
Agentes antihormonales	Tamoxifeno, antagonista del receptor de estrógeno	Cáncer mamario
Afectan la diferenciación	Ácido holo-trans-retinoico, que se dirige al receptor de ácido retinoico sobre células de leucemia promielocítica, lo que hace que se diferencien	Leucemia promielocítica
Afectan cambios epigenéticos	5-Azadesoxicitidina, inhibe DNA metiltransferasas El SAHA inhibe histona desacetilasas	Ciertas leucemias Linfoma de células T cutáneo

Abreviaturas: CML, leucemia mielocítica crónica, Mab, anticuerpo monoclonal; SAHA, ácido suberoilanilida hidroxámico (Vorinostat); VEGF A, factor de crecimiento del endotelio vascular A.

Nota: En algunos casos, los agentes anteriores pueden haber quedado reemplazados por otros agentes más eficaces. Asimismo, algunos de los anteriores se usan para tratar otras enfermedades además de las listadas.

La identificación de defectos diseminados en los mecanismos de señalización en células cancerosas, y en particular la detección de mutaciones en **tirosina cinasas**, ha llevado a la creación de inhibidores de estas enzimas. El éxito más notorio probablemente ha sido la introducción del imatinib (etiquetado como Gleevec) para el tratamiento de **leucemia mielocítica crónica (CML)**. El imatinib es un fármaco que se administra por vía oral, que inhibe la tirosina cinasa formada debido a la translocación cromosómica *ABL-BCR* involucrada en la génesis de la CML. El imatinib, un análogo de ATP, se une de manera competitiva a la bolsa de unión a ATP de la cinasa; este fármaco ha producido remisiones completas en muchos pacientes y puede combinarse con otros medicamentos. También se han creado otros inhibidores de la tirosina cinasa. Dos de éstos son el erlotinib y el gefinib, que inhiben el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), mismo que está sobreexpresado en ciertos cánceres pulmonares (p. ej., cánceres de células no pequeñas) y mamarios, lo que da lugar a señalización (constitutiva) aberrante. Cabe subrayar que el diseño de estos fármacos requiere **conocimiento estructural detallado**, como el que proporcionan la cristalografía de rayos X, los estudios de NMR y la construcción de modelo de las moléculas que se están estableciendo como objetivo. Otra clase de fármacos que han resultado útiles son los **anticuerpos monoclonales** contra diversas moléculas sobre la superficie de

células neoplásicas, por ejemplo, vea la consideración líneas antes sobre anti-VEFG mAb, algunos de estos mAb que son útiles desde el punto de vista clínico y terapéutico se listan en el cuadro 56-16.

Otros métodos para tratar cáncer que se están usando o que se encuentran en desarrollo, pero que no se listan en el cuadro 56-16, comprenden diversos tipos de **terapia génica** (incluso siRNA, capítulo 34), **inmunoterapia** (véase más adelante), **virus oncolíticos** (virus que invaden de preferencia células tumorales y las matan), **inhibidores del receptor de progesterona**, **inhibidores de la aromatasa** (capítulo 41) (para algunos cánceres mamarios y ováricos), **inhibidores de la telomerasa**, aplicaciones de **nanotecnología** (p. ej., nanoconchas y otras nanopartículas), **fototerapia** (capítulo 31) y fármacos que se **dirigirán de manera selectiva a células madre cancerosas**.

Como ocurre con cualquier fármaco, es necesario recordar que todos los fármacos anticáncer generan efectos secundarios, a veces graves, y que después de periodos variables puede aparecer resistencia a muchos de ellos. Los aspectos bioquímicos del modo en que las células cancerosas presentan resistencia a fármacos constituyen un área de investigación importante que no se describe aquí. Las células cancerosas usan diversas estrategias para desarrollar resistencia a fármacos (véase el resumen, **cuadro 56-17**). El enfoque general del desarrollo de fármacos para terapia de cáncer es usar la nueva información que está surgiendo a partir de estudios básicos de biología celular, molecular y de cáncer, para desarrollar fármacos más seguros y eficaces. La investigación intensiva durante las varias décadas pasadas ha dado por resultado un mayor entendimiento de alteraciones genéticas que subyacen la aparición de tipos de cáncer específicos. Este conocimiento ha llevado a un cambio desde el uso de fármacos citotóxicos de amplio espectro hacia terapias que están diseñadas específicamente para dirigirse a tumores individuales blanco. En la actualidad, un área importante de investigación es identificar **mutaciones conductoras** específicas, mutaciones que desempeñan papeles cruciales en el desarrollo de tumores (véase antes la exposición sobre cáncer colorrectal). El **establecimiento de perfil molecular de cáncer** en pacientes individuales permite a los oncólogos elegir el fármaco, o la modalidad de tratamiento, más apropiado que se dirige a la anormalidad molecular en cada tumor. Se ha mostrado que esa **terapia anticáncer personalizada** aumenta significativamente la respuesta a fármacos y la supervivencia en diversos tipos de cáncer. El entendimiento de diferencias genéticas en el metabolismo de fármacos anticáncer (capítulo 53) también puede ayudar a personalizar tratamientos anticáncer.

La **figura 56-16** resume algunos de los blancos para la farmacoterapia y algunas terapias emergentes que se han desarrollado a partir de estudios relativamente recientes de aspectos básicos del cáncer.

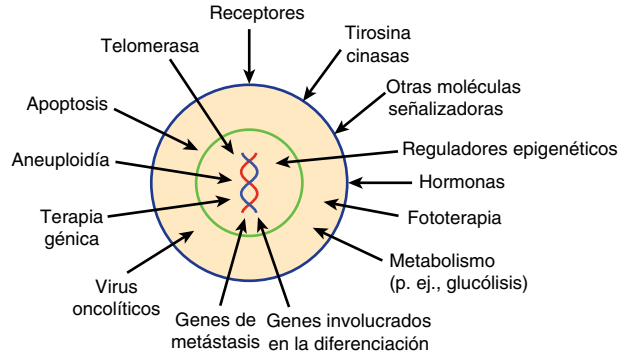


FIGURA 56-16 Ejemplos de blancos de fármacos anticáncer y algunas terapias que están surgiendo, ambos de los cuales se han desarrollado a partir de investigación relativamente reciente. En la figura no se muestran agentes antiangiogénicos, aplicaciones de nanotecnología, terapias dirigidas contra células madre cancerosas ni métodos inmunológicos. Casi todos los blancos y las terapias indicados se comentan brevemente en el texto.

CUADRO 56-17 Mecanismos mediante los cuales las células cancerosas pueden desarrollar resistencia a fármacos

Mecanismo de resistencia a fármaco	Ejemplo
Flujo de salida aumentado de fármaco desde la célula	La sobreexpresión de las proteínas de transporte, como las proteínas de resistencia a múltiples fármacos (MDR) (p. ej., P-glucoproteína o MDR1) causa flujo de salida de fármacos quimioterápicos de cáncer importantes, como taxanos, inhibidores de la topoisomerasa, y antimetabolitos
Activación disminuida de fármaco	Conversión disminuida de profármacos (como 5-fluorouracilo) a sus formas activas debido a regulación descendente de enzimas que catalizan su activación
Desactivación de fármaco	Los fármacos que contienen platino (cisplatino y carboplatino) son desactivados por conjugación con glutatión
Expresión aumentada del blanco del fármaco	Expresión aumentada de timidilato sintasa, el blanco de antimetabolitos como el 5-fluorouracilo
Apoptosis disfuncional	Sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas como la familia de proteínas BCL-2, y expresión disminuida de proteínas proapoptóticas como BAX y BAK
Activación de señalización prosupervivencia	Activación de señalización mediada por receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en respuesta a diversos fármacos quimioterápicos
Modificación del microambiente tumoral	Expresión aumentada de integrinas, proteínas que fijan las células a la matriz extracelular, que inhiben la apoptosis y alteran los blancos de fármacos (**resistencia farmacológica mediada por el ambiente**)

EXISTEN MUCHOS ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DEL CÁNCER

La inmunología tumoral es un área temática voluminosa; por ende, sólo se harán algunos comentarios respecto a este tema. Parece probable que la declinación normal de la capacidad de respuesta inmunitaria que acompaña al **envejecimiento** esté implicada en la incidencia aumentada de cáncer en las personas de mayor edad. Una esperanza que ha existido durante mucho tiempo ha sido que los métodos inmunológicos para tratar cáncer (**inmunoterapia**), debido a su **especificidad**, podrían ser capaces de matar selectivamente células cancerosas. Hay muchos estudios clínicos en proceso en los que se está investigando esta

posibilidad. Estos estudios comprenden el uso de anticuerpos, vacunas y diversos tipos de células T que se han manipulado de una u otra manera para aumentar su capacidad para matar células neoplásicas. Uno de los métodos que se ha probado que es eficaz es el uso de anticuerpos contra ciertas proteínas de superficie de linfocitos T; por ejemplo, se ha mostrado que anticuerpos desarrollados contra el antígeno de linfocito T citotóxico 4 (anti-CTLA-4) o muerte programada-1 (anti-PD1) "quitan los frenos" de estas células, lo que las libera para atacar células cancerosas. Otras estrategias con el uso de células T modificadas también han resultado ser eficaces. La principal ventaja de la inmunoterapia es que tiene un espectro amplio de acción y, por ende, puede usarse contra una amplia variedad de cánceres. Además, es menos probable que ocurra resistencia a esta forma de tratamiento. Se espera que la inmunoterapia sea la cuarta arma principal contra el cáncer, después de la intervención quirúrgica, la radioterapia y la quimioterapia, lo que hizo de ella el "Avance sensacional del año 2013" de la revista *Science*.

La **inflamación crónica** involucra aspectos de la función inmunitaria. Hay evidencia de que puede **predisponer a cáncer** (p. ej., la incidencia de cáncer colorrectal es mucho más alta que lo normal en individuos que han tenido colitis ulcerosa de larga evolución). Algunas células inflamatorias producen cantidades relativamente grandes de **especies de oxígeno reactivas**, que pueden causar daño del DNA, y quizá contribuir a la oncogénesis. También se ha informado que la **aspirina en dosis bajas** puede disminuir el riesgo de aparición de cáncer colorrectal, quizá por su acción antiinflamatoria.

Cáncer: relación con inflamación y obesidad

La asociación entre inflamación y cáncer ahora se encuentra bien establecida. La inflamación es un componente crucial de la tumorigénesis. Una vez dicho eso, cabe aclarar que sólo se entienden poco los mecanismos exactos que enlazan la inflamación y el cáncer. Los ejemplos de posibles moléculas que están involucradas en la inducción de un proceso inflamatorio comprenden el factor nuclear κ B (NF-κB) y el transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3). El NF-κB es un factor de transcripción que induce la expresión de proteínas que están involucradas en procesos proinflamatorios, proliferativos y de reparación. Se ha mostrado que ocurre activación de NF-κB en tumores en respuesta a estímulos inflamatorios o mutaciones oncogénicas (capítulo 42). La señalización por medio de STAT3 es activada por la interleucina 6 (IL-6) una citocina proinflamatoria, que activa la señalización de cinasa Janus (JAK)-STAT y sus eventos efectos torrente abajo (capítulo 42). Se cree que esos eventos se encargan de impulsar muchos datos característicos del cáncer. Además, el **"inflamasoma"**, un complejo multiproteínico que actúa como un detector de daño celular, es otro candidato potencial que media la inflamación. La activación de inflamasomas da pie a secreción de citocinas proinflamatorias, como IL-1β, e IL-18, ambas de las cuales han quedado implicadas en la tumorigénesis. Hay mucha evidencia para implicar otros mediadores inflamatorios en la aparición de tumores.

La obesidad se asocia con inflamación de grado bajo. El tejido adiposo visceral es considerado una fuente importante de citocinas proinflamatorias y otros factores implicados en el proceso. Ahora se sabe que el microambiente que rodea a las células tumorales influye sobre la tumorigénesis. Se considera que las células inflamatorias en el microambiente del tumor desempeñan un papel crucial en el proceso. Se ha mostrado que la obesidad media cambios disfuncionales en el microambiente y los exacerba; se ha mostrado que esto ocurre tanto en tejido normal como en tumores. Esos cambios incluyen alteraciones en factores que pueden ser de naturaleza endocrina, metabólica o inflamatoria. En contraste, se ha mostrado que la restricción calórica inhibe la tumorigénesis en modelos de experimentación. Tal restricción calórica afecta muchas vías celulares, como las que comprenden señalización del factor de crecimiento, inflamación, homeostasis celular y el microambiente tumoral. Estas observaciones sugieren que esos blancos pueden considerarse para la prevención de cáncer en humanos.

RESUMEN

- El cáncer se debe a mutaciones en los genes que controlan la multiplicación celular, la muerte celular (apoptosis) y las interacciones célula-célula (p. ej., adhesión celular). Otros aspectos importantes del cáncer son defectos en las vías de señalización celular, estimulación de la angiogénesis, aneuploidía y cambios en el microambiente celular.
- Casi todos los cánceres se deben a mutaciones que afectan células somáticas. Sin embargo, se han identificado varios cánceres hereditarios.
- Las clases principales de genes involucradas en el cáncer son los oncogenes y genes supresores tumorales. Las mutaciones que afectan genes que dirigen la síntesis y expresión de micro RNA también son importantes.
- Se están reconociendo cada vez más cambios epigenéticos en el cáncer (y en otras enfermedades); una razón para el interés por la epigenética es que las "marcas" epigenéticas responsables probablemente son reversibles mediante fármacos.
- Los mecanismos de las metástasis se están explorando intensivamente; el descubrimiento de genes aumentadores y supresores de metástasis, entre otros hallazgos, quizá lleve a nuevas terapias.
- La apoptosis, muerte celular programada, tiene funciones importantes en la oncogénesis. Las células cancerosas adquieren mutaciones que les permiten evadir la apoptosis, lo que prolonga así su replicación y permite que ésta sea continua.
- La secuenciación de todo el genoma de cánceres está ayudando a revelar las mutaciones importantes que se encuentran en muchos tipos de cáncer y ha proporcionado información nueva acerca de la evolución de células cancerosas.
- Las células cancerosas muestran diversas alteraciones del metabolismo. Un dato importante que ha atraído mucha atención es la tasa alta de glucólisis aeróbica mostrada por muchas células. Se describen posibles explicaciones para este fenómeno. Las mitocondrias muestran algunas alteraciones en muchas células cancerosas.
- En general, la aparición de cáncer es un proceso de múltiples pasos que comprende cambios genéticos, epigenéticos y microambientales que confieren ventajas selectivas sobre clonas de células, algunas de las cuales finalmente adquieren la capacidad para metastatizar exitosamente. Debido a la diversidad de mutaciones, es posible que no haya dos tumores que tengan genomas idénticos.

- Los marcadores tumorales pueden ayudar en el diagnóstico temprano de cáncer. Son en particular útiles en el seguimiento de la respuesta del cáncer al tratamiento y en la detección de recurrencias. Esos marcadores pueden ser moléculas pequeñas, proteínas o, como se demostró en fecha muy reciente, DNA derivado de tumor, circulante.
- Los avances en el entendimiento de los aspectos de biología molecular de las células cancerosas han llevado a la introducción de varias terapias nuevas, y otras se encuentran en estudio.

REFERENCIAS

Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, *et al*: Signatures of mutational processes in human cancer. Nature 2013;500: 415-421.

Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ: Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. Sci Trans Med 2014;6(224):224ra24.

Dawson MA, Kouzarides T: Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. Cell 2012:150:12-27.

Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, *et al*: Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumors, immune cells and microorganisms. Nature Rev Cancer 2013;13:759-771.

Green DR: *Means to an End: Apoptosis and Other Cell Death Mechanisms*. Cold Spring Harbor Press, 2010.

Hanahan D, Weinberg RA: Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011;144:646-674.

Holohan C, Van Schaeybroeck S, Longley DB, *et al*: Cancer drug resistance: an evolving paradigm. Nat Rev Cancer 2013;13: 714-726.

Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH, *et al*: Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumor types. Nature 2014;505:495-501.

Ling H, Fabbri M, Calin GA: MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. Nat Rev Drug Discov 2013;12:847-865.

Link A, Balaguer F, Goel A: Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: promising role for epigenetics. Biochem Pharmacol 2010;80:1771-1792.

Lodish H, Berk A, Kaiser CA, *et al*: *Molecular Cell Biology*. 7th ed. WH Freeman & Co, 2012. (Contains a comprehensive chapter on cancer).

Tafani M, Pucci B, Russo A, *et al*: Modulators of HIF1a and NFkB in cancer treatment: is it a rational approach for controlling malignant progression? Frontiers Pharmacol 2013;4:1-10.

Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, *et al*: Cancer genome landscapes. Science 2013;339:1546-1558. (This is one of four reviews on cancer biology in this issue of Science).

Ward PS, Thompson CB: Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even Warburg did not anticipate. Cancer Cell 2012:21:297-308.

Weinberg R: *The Biology of Cancer*, 2nd ed. Garland Science, 2013.

Yachida S, Jones S, Bozic I, *et al*: Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. Nature 2010 (Oct 28);467(7319):1114.

Zhao J, Lawless MW: Stop feeding cancer: proinflammatory role of visceral adiposity in liver cancer. Cytokine 2013;64:626-637.

SITIOS WEB ÚTILES

American Cancer Society. http://www.cancer.org

National Cancer Institute, U.S. National Institute of Health. http://www.cancer.gov

The Cancer Genome Atlas. http://cancergenome.nih.gov

GLOSARIO

Análisis de Ames: un sistema de análisis ideado por el Dr. Bruce Ames, en el que se utiliza *Salmonella typhimurium* diseñada especialmente para detectar mutágenos. Casi todos los carcinógenos son mutágenos, pero si se detecta mutagenicidad de una sustancia química, lo ideal es probarla respecto a carcinogenicidad mediante pruebas en animales.

Análisis de microarreglo: análisis usando una lámina, a menudo hecha de silicio, en la cual se han colocado pequeñas cantidades de miles de ácidos nucleicos diferentes. Se aplican muestras de cDNA o de DNA genómico y se permite que se hibriden (unión entre secuencias complementarias). Las interacciones pueden cuantificarse para evaluar la expresión de gen u otros parámetros. Se dispone de diversos microarreglos comerciales ("chips de genes"). Esta técnica se está aplicando cada vez más a pacientes con cánceres, a fin de ayudar en la clasificación del tumor, y en predicciones del pronóstico y de la respuesta a la farmacoterapia.

Aneuploidía: se refiere a cualquier estado en el cual el número de cromosomas de una célula no es un múltiplo exacto del número haploide básico. La aneuploidía se encuentra en muchas células tumorales y puede desempeñar un papel fundamental en la aparición de cáncer.

Angiogénesis: la formación de vasos sanguíneos nuevos. La angiogénesis a menudo es activa alrededor de células tumorales, lo que asegura que obtengan un riego sanguíneo adecuado. El tumor y las células circundantes secretan varios factores de crecimiento (p. ej., factor de crecimiento del endotelio vascular, VEGF) que están involucrados en este proceso.

Apoptosis: muerte celular debida a la activación de un programa genético que causa fragmentación del DNA celular y otros cambios. Las caspasas desempeñan un papel fundamental en el proceso. Muchos reguladores positivos y negativos la afectan. La proteína p53 induce apoptosis como una respuesta al daño del DNA celular. Casi todas las células cancerosas muestran anormalidades de la apoptosis, debido a diversas mutaciones que ayudan a asegurar su supervivencia prolongada.

Cáncer: un crecimiento maligno de células.

Carcinógeno: cualquier agente (p. ej., una sustancia química o radiación) capaz de hacer que las células se tornen cancerosas.

Carcinoma: tumor maligno de origen epitelial. Un cáncer de origen glandular o que muestra características glandulares por lo general se designa un adenocarcinoma.

Caspasas: enzimas proteolíticas que desempeñan un papel fundamental en la apoptosis, pero que también están involucradas en otros procesos. Hay alrededor de 15 en humanos. Las caspasas hidrolizan enlaces peptídicos en posición justo C terminal a residuos aspartato.

Célula madre cancerosa: una célula dentro de un tumor que tiene la capacidad para renovarse por sí misma y para dar lugar a las líneas heterogéneas de células cancerosas que se encuentran en el tumor.

Células malignas: son células cancerosas (células con la capacidad de crecer de una manera irrestricta, invadir y diseminarse [metastatizar] hacia otras partes del cuerpo).

Centríolo: un arreglo de microtúbulos que están pareados y se encuentran en el centro de un centrosoma. (Véase también **Centrosoma**).

Centrómero: la región constreñida de un cromosoma mitótico donde las cromátides están unidas entre sí. Se encuentra en estrecha proximidad al cinetocoro. Las anormalidades de los centrómeros pueden contribuir a CIN. (Véase también **Cinetocoro**).

Centrosoma: un orgánulo ubicado centralmente que es el centro organizador de microtúbulos primario de una célula. Actúa como el polo del huso durante la división celular.

Ciclo celular: los diversos eventos respecto a la división celular que ocurren conforme una célula pasa de una mitosis a otra.

Cinetocoro: una estructura que se forma en cada cromosoma mitótico adyacente al centrómero. Las mutaciones que afectan las estructuras de las proteínas que lo componen podrían contribuir a causar CIN. (Véase también **Centrómero**).

Clona: todas las células de una clona se derivan de una célula progenitora.

Complejo pasajero cromosómico: un complejo de proteínas que desempeña un papel clave en la regulación de la mitosis. En el centrómero, dirige la alineación del cromosoma y participa en el montaje del huso. Sus proteínas comprenden aurora B cinasa y survivina. Las mutaciones que afectan sus proteínas pueden contribuir a CIN y aneuploidía.

Cromátide: un cromosoma único.

Cromosoma Filadelfia: un cromosoma formado por una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. Es la causa de la leucemia mieloide crónica (CML). Para formar el cromosoma anormal, parte del gen *BCR* (región de agrupamiento de punto de rotura) del cromosoma 22 se fusiona con parte del gen *ABL* (que codifica para una tirosina cinasa) del cromosoma 9, lo que dirige la síntesis de una proteína quimérica que tiene actividad de tirosina cinasa no regulada e impulsa proliferación celular. La actividad de esta cinasa es inhibida por el fármaco imatinib, que se ha usado exitosamente para tratar CML. (Véase también **Translocación cromosómica**).

Deslizamiento de replicación: un proceso en el cual, debido a liberación inadecuada de cadenas de DNA donde ocurren secuencias repetidas, la DNA polimerasa hace una pausa y se disocia, lo que da lugar a deleciones de secuencias repetidas o inserciones de las mismas.

Epigenética: se refiere a cambios de la expresión de gen sin cambio de la secuencia de bases en el DNA. Los factores que causan cambios epigenéticos son metilación de bases en el DNA, modificaciones postraduccionales de histonas, y remodelado de la cromatina.

Factores de crecimiento: diversos polipéptidos secretados por muchas células normales y tumorales. Estas moléculas actúan por medio de modos autocrino (afectan las células que producen el factor de crecimiento), paracrino (afectan las células vecinas) o endocrino (viajan en la sangre y afectan células distantes). Estimulan la proliferación de células blanco mediante interacciones con receptores específicos. También tienen muchas otras propiedades biológicas.

Factores inducibles por hipoxia (HIF): una familia de factores de transcripción (al menos tres) importantes en la dirección de respuestas celulares a diversas concentraciones de oxígeno. Cada factor está formado de una subunidad α regulada por oxígeno diferente, y una subunidad β constitutiva común. A concentración fisiológica de oxígeno, la subunidad α pasa por degradación rápida, iniciada por propil hidroxilasas. Los HIF tienen diversas funciones; por ejemplo, el HIF-1 regula en dirección ascendente diversos genes que codifican para enzimas de la glucólisis, y la expresión de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).

Gen supresor tumoral: un gen cuyo producto proteínico normalmente restringe el crecimiento celular, pero cuando su actividad se pierde o se reduce por mutación contribuye al desarrollo de una célula cancerosa.

Inestabilidad cromosómica (CIN): la tasa de ganancia o pérdida de cromosomas enteros o segmentos de ellos, causada por anormalidades de la segregación cromosómica durante la mitosis. (Véase también **Inestabilidad genómica** e **Inestabilidad de microsatélite**). Hay varios trastornos que se denominan síndromes de CIN porque se asocian con anormalidades cromosómicas. Uno de ésos es el síndrome de Bloom, en el cual se observa una frecuencia alta de intercambios de cromátide hermana. En estas enfermedades se encuentra una incidencia aumentada de diversos cánceres.

Inestabilidad de microsatélite: expansión o contracción de repeticiones en tándem cortas (microsatélites) debido a deslizamiento de la replicación, anormalidades de la reparación de errores de emparejamiento, o de recombinación homóloga. Para **Microsatélites,** véase el capítulo 35.

Inestabilidad genómica: esto se refiere a varias alteraciones del genoma, de las cuales las dos principales son la CI y la inestabilidad de microsatélite. En general, refleja el hecho de que los genomas de células cancerosas son más susceptibles a mutaciones que las células normales, debido en parte a deterioro de los sistemas de reparación del DNA.

Leucemias: diversas enfermedades malignas en las cuales leucocitos de diversas clases (p. ej., mieloblastos, linfoblastos, etc.) proliferan de una manera irrestricta. Las leucemias pueden ser agudas o crónicas.

Linfoma: grupo de neoplasias que surgen en los sistemas reticuloendotelial y linfático. Los principales miembros del grupo son los linfomas de Hodgkin y no Hodgkin.

Linfoma de Burkitt: éste es un linfoma de células B, endémico en partes de África, donde afecta principalmente la mandíbula y los huesos faciales. También se encuentra en otros lugares. Es característica una translocación recíproca que comprende el gen C- *MYC* en el cromosoma 8 y el gen que codifica para la cadena pesada de inmunoglobulina en el cromosoma 14.

Metástasis: la capacidad de las células cancerosas para diseminarse hacia partes distantes del cuerpo y crecer ahí.

Modificadores de la respuesta biológica: moléculas producidas por el cuerpo o en el laboratorio, que cuando se administran a pacientes alteran la respuesta del organismo a la infección, la inflamación y otros procesos. Los ejemplos son anticuerpos monoclonales, citocinas, interleucinas, interferones y factores de crecimiento.

Mutación conductora: una mutación en un gen que ayuda a causar cáncer o lo acelera. Las mutaciones que se encuentran en tumores que no causan cáncer o su progresión se llaman *mutaciones pasajeras*.

Nanotecnología: el desarrollo y la aplicación de dispositivos de sólo algunos nanómetros de tamaño (10^{-9} m = 1 nm). Algunos se están aplicando a la terapia de cáncer. Por ejemplo, las nanoconchas (partículas esféricas muy pequeñas con un centro de sílice y una cubierta de oro) afinadas a luz cercana a la infrarroja se han administrado a ratones que presentan tumores, en los cuales se acumulan las nanoconchas. Los tumores después se sujetaron a luz láser cercana al infrarrojo. Esto calentó los tumores de manera selectiva, los mató, y no hubo signo de recurrencia en el seguimiento. (Morton JG *et al.*: Nanoshells for photothermal cancer therapy. Methods Mol Biol 2010;624:101. June 25, 2010).

Necrosis: muerte celular inducida por sustancias químicas o lesión de tejido. Hay liberación de diversas enzimas hidrolíticas que digieren moléculas celulares. No es un proceso genéticamente programado, como lo es la apoptosis. Las células afectadas por lo general estallan y liberan su contenido, lo que causa inflamación local.

Neoplasia: cualquier crecimiento nuevo de tejido, benigno o maligno.

Oncogén: un protooncogén mutado cuyo producto proteínico está involucrado en la transformación de una célula normal en una célula cancerosa.

Oncología: área de la ciencia médica que estudia todos los aspectos del cáncer (causas, diagnóstico, tratamiento, etc.).

Pérdida de la heterocigosidad (LOH): esto ocurre cuando hay pérdida del alelo normal (que a menudo codifica para un gen supresor tumoral) de un par de cromosomas heterocigóticos, lo que permite que los resultados del alelo defectuoso se manifiesten en clínica.

Pólipo adenomatoso: tumor benigno de origen epitelial que tiene el potencial de convertirse en un carcinoma. Los adenomas a menudo son polipoides. Un pólipo es un tumor que sobresale desde una mucosa; casi todos son benignos, pero algunos pólipos pueden hacerse malignos.

Portero: una versión mutada de un gen que inicia la cascada de eventos que causan oncogénesis (p. ej., *RB*).

Procarcinógeno: una sustancia química que se convierte en carcinógeno cuando es alterada por el metabolismo.

Protooncogén: un gen celular normal, que cuando está mutado puede dar lugar a un producto que estimula el crecimiento de células, lo que contribuye a la aparición de cáncer.

Receptor FAS: un receptor que inicia la apoptosis cuando se une a su ligando, FAS. FAS es una proteína que se encuentra sobre la superficie de células asesinas naturales activadas, linfocitos T citotóxicos, y otras fuentes.

Remodelado de cromatina: cambios conformacionales de nucleosomas desencadenados por las acciones de complejos multiproteínicos (como el complejo SW1/SNF). Estos cambios alteran la transcripción de gen (la activan o la desactivan, dependiendo de las condiciones específicas). Los complejos contienen dominios homólogos helicasa dependiente de ATP; éstos se encuentran involucrados en los cambios de conformación. Las mutaciones que afectan proteínas de los complejos, como puede encontrarse en células cancerosas, pueden afectar la expresión de gen. (Véase también **Epigenética**).

Retinoblastoma: raro tumor de la retina. La mutación del gen supresor tumoral *RB* desempeña un papel clave en su aparición. Los pacientes con retinoblastomas hereditarios han heredado una copia mutada del gen RB, y sólo necesitan otra mutación para presentar el tumor. Los pacientes con retinoblastomas esporádicos nacen con dos copias normales, y requieren dos mutaciones para desactivar el gen.

Sarcoma: un tumor maligno de origen mesenquimatoso (p. ej., proveniente de células de la matriz extracelular o de otras fuentes).

Síndrome de Bloom: uno de los síndromes de CI. Se debe a mutaciones de la DNA helicasa. Los sujetos son sensibles a daño del DNA y pueden presentar diversos tumores.

Telómeros: estructuras en los extremos de cromosoma que contienen múltiples repeticiones de secuencias de DNA hexanucleótido específicas. Los telómeros de células normales se acortan con la división celular repetida, lo que puede dar por resultado muerte celular. La enzima telomerasa replica telómeros, y a menudo se expresa en células cancerosas y las ayuda a evadir la muerte celular. La telomerasa por lo general no se detecta en células somáticas normales.

Transformación: el proceso mediante el cual células normales en cultivo de tejido cambian a células anormales (p. ej., por virus o sustancias químicas oncogénicos), algunas de las cuales pueden ser malignas.

Translocación: el desplazamiento de una parte de un cromosoma a un cromosoma diferente o a una parte diferente del mismo cromosoma. Los ejemplos clásicos son la translocación que se encuentra en el linfoma de Burkitt (véase antes), y la translocación entre los cromosomas 9 y 22, que causa la aparición del cromosoma Filadelfia que se encuentra en la leucemia mielógena crónica. Se han hallado translocaciones en muchas células cancerosas.

Translocación cromosómica: cuando parte de un cromosoma queda fusionado a otro, lo que a menudo causa activación de un gen en el sitio. El cromosoma Filadelfia (véase más adelante) es uno de muchos ejemplos de una translocación cromosómica involucrada en el origen de cáncer.

Tumor: cualquier crecimiento nuevo de tejido, pero por lo general se refiere a una neoplasia benigna o maligna.

Tumor benigno: una masa de células en proliferación anormal, cuyo crecimiento es impulsado por mutaciones en al menos un supresor tumoral o un oncogén. Estas células tumorales no son invasivas y no metastatizan.

Variaciones del número de copia (CNV): variaciones (debidas a duplicaciones o deleciones) entre individuos respecto al número de copias que tienen de genes particulares. Las CNV se están reconociendo cada vez más para diversos genes, y algunas pueden asociarse con diversas enfermedades, incluso ciertos tipos de cáncer.

Virus del sarcoma de Rous (RSV): un virus tumoral RNA que causa sarcomas en pollos. Fue descubierto en 1911 por Peyton Rous. Es un retrovirus que usa transcriptasa inversa en su replicación; la copia de RNA de su genoma después se integra en el genoma de la célula huésped. Se ha utilizado ampliamente en estudios de cáncer, y su uso ha llevado a muchos datos importantes.

CAPÍTULO 57

Historias de caso bioquímicas

David A. Bender, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Usar su conocimiento para explicar los defectos bioquímicos subyacentes en enfermedades.

INTRODUCCIÓN

En este capítulo final, se presentan nueve historias de caso como problemas abiertos para que usted los resuelva, con base en lo que ha aprendido al estudiar este libro. No se proporcionan soluciones y no hay discusión de los casos; todo lo que necesita saber para explicar los problemas está disponible en otros capítulos de este libro.

En muchos casos, los resultados de los análisis de química clínica del paciente se presentan junto con los rangos de referencia. Éstos pueden diferir de un problema a otro, y de los rangos de referencia que se presentan en el cuadro 48-3 porque los rangos de referencia de diferentes laboratorios difieren en muchos casos (capítulo 48).

CASO 1

El paciente es un niño de cinco años de edad, quien nació en 1967, a término, después de un embarazo sin contratiempos. Fue un lactante enfermizo y no creció bien. En varias ocasiones su madre notó que parecía somnoliento, o incluso comatoso, y dijo que su aliento y su orina tenían un olor "a sustancia química, parecido al del alcohol". El médico general sospechó diabetes mellitus y envió al niño al Middlesex Hospital en Londres para que se le practicara una prueba de tolerancia a la glucosa. Los resultados se muestran en la **figura 57-1**.

También se tomaron muestras de sangre para mediciones de insulina en el tiempo cero y una hora después de la carga de glucosa. En esa época se estaba desarrollando un nuevo método de medición de la insulina, la radioinmunovaloración (capítulo 48) y, por ende, se usaron tanto ésta como la valoración biológica convencional. El método biológico de medición de la insulina se fundamenta en su capacidad para estimular la captación y el metabolismo de glucosa en el músculo de rata *in vitro*; este estudio es relativamente sencillo de efectuar al medir la radiactividad en $^{14}CO_2$ después de incubar muestras por duplicado del músculo con [^{14}C]glucosa, con y sin la muestra que contiene insulina. Los resultados se muestran en el **cuadro 57-1**.

Como parte de sus estudios de la nueva radioinmunovaloración para insulina, el equipo en el Middlesex Hospital efectuó cromatografía de exclusión en gel de una muestra combinada de suero normal y cuantificó la insulina en las fracciones eluidas a partir de las columnas tanto mediante radioinmunovaloración (gráfico A en la **figura 57-2**) como por medio de estimulación de la oxidación de glucosa (gráfico B). Se usaron tres marcadores de masa molecular; mostraron elución como sigue: M_r 9000 en la fracción 10, M_r 6000 en la fracción 23, y M_r 4500 en la fracción 27.

Los investigadores también midieron la insulina en las fracciones eluidas desde la columna de cromatografía después de tratamiento de cada fracción con tripsina. Los resultados se muestran en el gráfico C.

Después de ver los resultados de estos estudios, sujetaron la misma muestra de suero combinada a tratamiento breve con tripsina y realizaron cromatografía de exclusión en gel en el producto. De nuevo, midieron la insulina mediante radioinmunovaloración (gráfico D) y valoración biológica (gráfico E).

Desde estos estudios durante la década de 1960-1969, el gen que codifica para la insulina humana se ha clonado. Si bien la insulina consta de dos cadenas peptídicas, de 21 y 30 aminoácidos de largo, respectivamente, éstas son codificadas por un gen único, que tiene un total de 330 pares de bases entre los codones iniciador y de paro. Como usted esperaría para una proteína secretada, hay una secuencia señal que codifica para 24 aminoácidos en el extremo 5′ del gen.

¿Qué sugiere esta información acerca de los procesos que ocurren en la síntesis de insulina?

¿Cuál es la base bioquímica subyacente probable del problema del paciente?

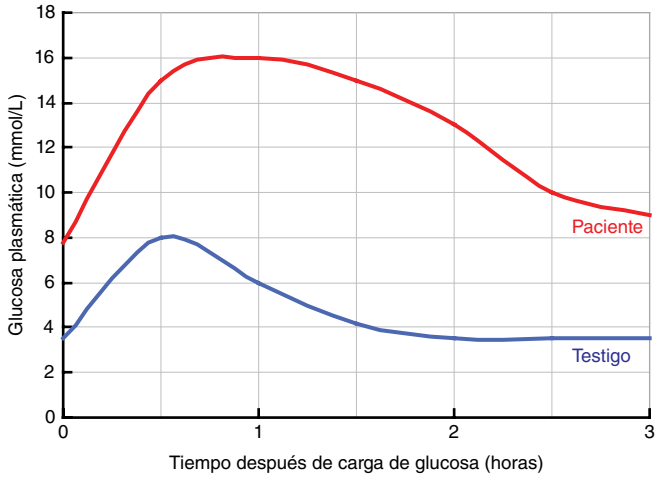


FIGURA 57-1 **Glucosa plasmática en el paciente y un sujeto testigo después de una dosis de prueba de glucosa.**

CASO 2

El paciente es un varón de 50 años de edad, de 174 cm de estatura y 105 kg de peso. Es un ingeniero y trabaja en comisión de servicio en uno de los estados islámicos estrictos en el Golfo, donde está prohibido el alcohol. A principios de agosto regresó a casa por sus vacaciones anuales. De acuerdo con su familia, se comportó como usualmente lo hacía cuando estaba de licencia: consumía mucho alcohol y se rehusaba a comer. Bebía 2 L de whisky, 2 a 3 botellas de vino, y una docena o más de latas de cerveza cada día; su único alimento sólido constaba de dulces y galletas.

El 1 de septiembre fue admitido a la sala de urgencias, semiinconsciente y con una frecuencia respiratoria rápida (40/minuto). La presión arterial fue de 90/60 y el pulso de 136/minuto. La temperatura fue normal (37.1 °C). El análisis de gases arteriales urgente reveló acidosis grave: pH, 7.02, y exceso de base, −23; pO_2, 91 mmHg y pCO_2, 10 mmHg. Fue transferido a cuidado intensivo y se le administró bicarbonato por vía intravenosa.

El pulso permaneció alto y la presión arterial baja, de modo que se efectuó cateterismo cardíaco urgente; esto reveló un gasto cardíaco de 23 L/minuto (normal, 4 a 6). Una radiografía de tórax mostró agrandamiento cardíaco importante.

En el **cuadro 57-2** se muestran los resultados de química clínica de una muestra de plasma tomada poco después de la admisión.

¿Cuál es la base bioquímica probable del problema del paciente, que llevó a su hospitalización urgente?

¿Qué prueba(s) adicional(es) podría usted solicitar para confirmar su suposición?

¿Qué tratamiento urgente sugeriría usted?

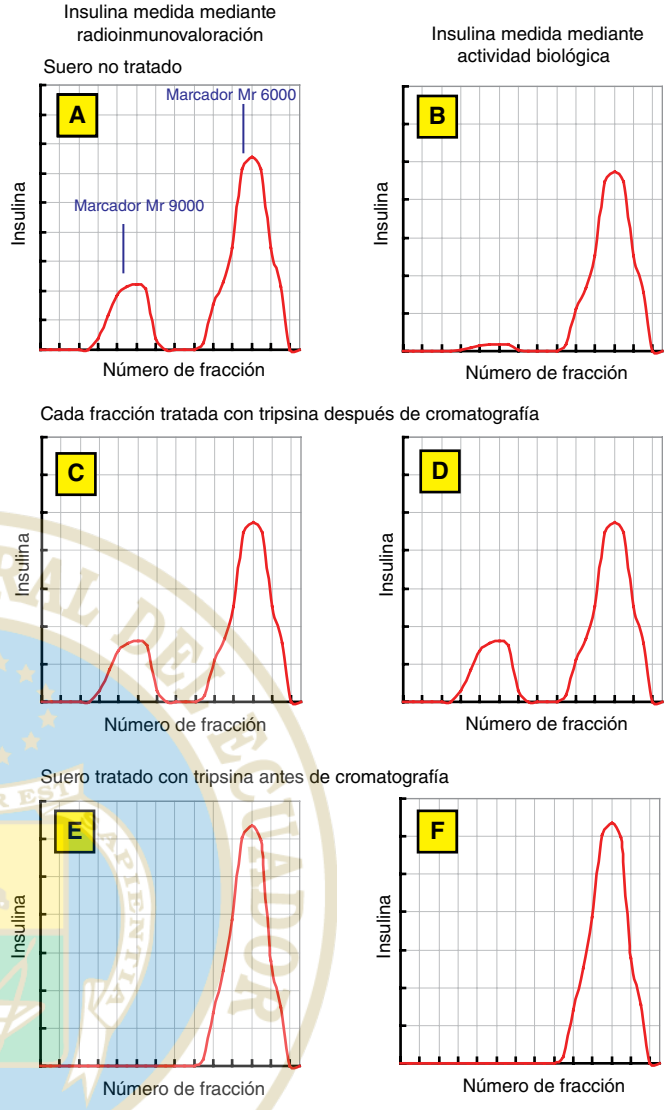


FIGURA 57-2 **Insulina medida mediante radioinmunovaloración y valoración biológica antes y después de tratamiento de muestras de plasma con tripsina.**

CASO 3

El paciente es un afroamericano reclutado al ejército. Se le administró el fármaco antipalúdico primaquina y sufrió una reacción tardía con dolor renal, orina oscura y recuentos bajos de eritrocitos que llevaron a anemia y debilidad. La centrifugación de una muestra de sangre mostró un hematocrito bajo y el plasma era de color rojo.

Se han observado ataques hemolíticos agudos similares, predominantemente en varones de origen afrocaribeño, en respuesta

CUADRO 57-1 **Insulina sérica (mU/L) medida mediante valoración biológica y radioinmunovaloración**

	Muestra de sangre basal (en ayunas)		Una hora después de carga de glucosa	
	Paciente (caso 1)	Sujetos testigo	Paciente (caso 1)	Sujetos testigo
Valoración biológica	0.8	6 ± 2	5	40 ± 11
Radioinmunovaloración	10	6 ± 2	50	40 ± 11

CUADRO 57-2 Resultados de química clínica para el paciente en el caso 2 en el momento de la admisión. Todos los valores son mmol/L

	Paciente en el caso 2	Rango de referencia
Glucosa	10.6	3.5-5
Sodio	142	131-151
Potasio	3.9	3.4-5.2
Cloruro	91	100-110
Bicarbonato	5	21-29
Lactato	18.9	0.9-2.7
Piruvato	2.5	0.1-0.2

a primaquina y varios otros fármacos, entre ellos dapsona, el antipirético acetilfenilhidrazina, el antibacteriano trimetoprim/sulfametoxazol, sulfonamidas y sulfonas, cuya única característica común es que todos sufren reacciones no enzimáticas cíclicas en presencia de oxígeno para producir peróxido de hidrógeno y diversos radicales de oxígeno que pueden causar daño oxidativo de lípidos de membrana, que lleva a hemólisis. La infección moderadamente grave también puede precipitar una crisis hemolítica en personas susceptibles.

Una manera de efectuar pruebas de detección para sensibilidad a primaquina se basa en la observación de que la concentración de glutatión de los eritrocitos de sujetos sensibles es un poco más baja que la de sujetos testigo y disminuye de manera considerable en el momento de la incubación con acetilfenilhidrazina.

El glutatión (GSH) es un tripéptido, γ-glutamil-cisteinil-lisinas, que se oxida fácilmente para formar un hexapéptido con enlace disulfuro, glutatión oxidado, que por lo general se abrevia GSSG. En el **cuadro 57-3** se muestran las concentraciones de GSH y GSSG en los eritrocitos del paciente y de 10 sujetos testigo, antes de incubación con acetilfenilhidrazina y después.

¿Cuánto GSH es oxidado por cada mol de acetilfenilhidrazina añadido?

La K_m reportada de la glutatión reductasa para GSSG es de 65 µmol/L, y para el NADPH, de 8.5 µmol/L. Lisados de eritrocitos se incubaron con una concentración saturante de GSSG (1 mmol/L) y NADPH o NADH (100 µmol/L). Cada incubación contuvo el hemolizado de 0.5 mL de células aglomeradas (**cuadro 57-4**).

Puesto que ninguno de los lisados de eritrocitos mostró actividad importante alguna con NADH, es poco probable que haya actividad alguna de transhidrogenasa en los eritrocitos, para reducir el $NADP^+$ a NADPH a expensas de NADH. Esto suscita el problema de la fuente de NADPH en los eritrocitos.

CUADRO 57-4 Glutatión reductasa, µmol de producto formado/minuto

	Paciente en el caso 3	Sujetos testigo
NADPH	0.64	0.63 ± 0.06
NADH	0.01	0.01 ± 0.001

El colorante azul de metileno oxidará el NADPH; el colorante reducido a continuación pasa por oxidación no enzimática en el aire, de modo que la adición de una cantidad relativamente pequeña de azul de metileno agotará con eficacia el NADPH, y se esperaría que estimulara una vía que reduce el $NADP^+$ a NADPH.

Eritrocitos de sujetos testigo se incubaron con 10 mmol/L de [^{14}C]glucosa con o sin la adición de azul de metileno; se usaron los seis posibles isómeros posicionales de [^{14}C]glucosa, y la radiactividad en (lactato + piruvato) se determinó después de cromatografía de capa delgada de la mezcla de incubación. Cada incubación contuvo 1 mL de eritrocitos en un volumen de incubación total de 2 ml (**cuadro 57-5**).

En estudios adicionales, sólo se midió la formación de $^{14}CO_2$ a partir de [^{14}C-1]glucosa, con la adición de:

- Ascorbato de sodio (que sufre una reacción no enzimática en el aire para producir H_2O_2).
- Acetilfenilhidrazina (que se sabe que precipita hemólisis en sujetos sensibles y agota el glutatión reducido).
- Azul de metileno (que oxida el NADPH).

Las incubaciones se repitieron con *N*-etilmaleimida, que sufre una reacción no enzimática con el grupo —SH del glutatión reducido y, así, agota el glutatión total de la célula. Los resultados se muestran en el **cuadro 57-6**.

Estudios adicionales mostraron que los eritrocitos del paciente sólo contuvieron alrededor de 20% de la actividad normal de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (capítulo 20). Para investigar por qué la actividad de esta enzima fue tan baja, una muestra de eritrocitos del paciente se incubó a 45 °C durante 60 minutos y después se enfrió a 30 °C, con lo que se cuantificó la actividad de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. Después de la preincubación a 45 °C, los eritrocitos sólo mostraron 60% de su actividad inicial. En contraste, los eritrocitos de sujetos testigo retuvieron 90% de su actividad inicial después de preincubación a 45 °C durante 60 minutos.

¿A qué conclusiones puede llegar a partir de estos resultados?

CUADRO 57-3 El efecto de la incubación con 330 µmol/L de acetilfenilhidrazina sobre el glutatión eritrocítico

	Paciente en el caso 3		Sujetos testigo	
	GSH (mmol/L)	GSSG (µmol/L)	GSH (mmol/L)	GSSG (µmol/L)
Inicial	1.61	400	2.01 ± 0.29	4.2 ± 0.61
+ acetilfenilhidrazina	0.28	1 540	1.82 ± 0.24	190 ± 28

CUADRO 57-5 Producción de [^{14}C] lactato, piruvato y CO_2 por 1 mL de eritrocitos de sujetos testigo, incubados durante 1 hora con 10 mmol/L de [^{14}C]glucosa a 10 µCi/mmol

	Testigo		+ Azul de metileno	
	Lactato + piruvato	CO_2	Lactato + piruvato	CO_2
[^{14}C-1]glucosa	12 680 ± 110	1 410 ± 15	1 830 ± 20	12 260 ± 130
[^{14}C-2]glucosa	14 080 ± 120	ND	14 120 ± 120	ND
[^{14}C-3]glucosa	14 100 ± 120	ND	14 090 ± 120	ND
[^{14}C-4]glucosa	14 060 ± 120	ND	14 080 ± 120	ND
[^{14}C-5]glucosa	14 120 ± 120	ND	14 060 ± 120	ND
[^{14}C-6]glucosa	14 090 ± 110	ND	14 100 ± 120	ND

ND, no detectable, esto es, por debajo de los límites de detección.
Las cifras muestran dpm, media ± SD para cinco incubaciones replicativas.

CASO 4

El paciente es un niño maltés de 10 años de edad. El día de su cumpleaños, su tía le dio un pastel hecho de habas (un platillo local), esa tarde el niño sufrió dolor de riñón y expulsó orina oscura. Un frotis de sangre mostró un recuento bajo de eritrocitos y el plasma era de color rojo. Este problema se observa con cierta frecuencia en Malta y, de hecho, varios de sus compañeros de clase (todos varones) habían muerto tras precipitarse una crisis aguda por comer habas o después de una fiebre moderada asociada con una infección.

Estudios adicionales mostraron que la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa de los eritrocitos del paciente sólo fue de 10% de lo normal, y tuvo una K_m muy alta para $NADP^+$. A diferencia del paciente en el caso 3, la enzima eritrocítica fue estable ante incubación a 45 °C como la de los sujetos testigo.

¿A qué conclusiones puede llegar a partir de estas observaciones?

CASO 5

El paciente es una lactante de 28 semanas de edad. Fue admitida a la sala de urgencias en coma y había sufrido una convulsión después de comer. Tenía una infección ligera y fiebre leve en ese momento. Desde el nacimiento, la lactante había sido enfermiza, vomitaba con frecuencia y se tornaba somnolienta después de comer. Se le alimentaba con biberón y en una ocasión se sospechó alergia a la leche de vaca, aunque los problemas persistieron cuando se le alimentó con leche de soya.

CUADRO 57-6 Producción de $^{14}CO_2$ por 1 mL de eritrocitos de sujetos testigo, incubados durante 1 hora con 10 mmol/L de [^{14}C-1] glucosa a 10 µCi/mmol

Adiciones	Testigo	+ *N*-etilmaleimida
Ninguna	1 410 ± 70	670 ± 30
Ascorbato	8 665 ± 300	2 133 ± 200
Acetilfenilhidrazina	7 740 ± 320	4 955 ± 325
Azul de metileno	12 230 ± 500	11 265 ± 450

Las cifras muestran dpm, media ± sd para cinco incubaciones replicativas.

En el momento de la admisión la lactante tenía hipoglucemia leve, cetosis y el pH del plasma era de 7.29. El análisis de una muestra de sangre mostró cifras normales de insulina, pero considerable hiperamonemia (concentración plasmática de ion amonio de 500 µmol/L; rango de referencia, 40 a 80 µmol/L). La paciente mostró buena respuesta a la administración de glucosa por vía intravenosa y a la administración rectal de lactulosa, tras lo que recuperó el conocimiento. La lactante tuvo tono muscular inadecuado.

Se obtuvo una biopsia de hígado y las actividades de las enzimas de la síntesis de la urea (capítulo 28) se cuantificaron y se compararon con las actividades en muestras de hígado *post mortem* de seis lactantes de la misma edad. Los resultados se muestran en el **cuadro 57-7**. La lactante permaneció bien con una dieta alta en carbohidratos, baja en proteínas, durante varios días, aunque el tono muscular inadecuado y la debilidad muscular persistieron. Se obtuvo una segunda muestra de biopsia hepática después de cuatro días y se volvió a cuantificar la actividad de las enzimas.

Se continuó la dieta muy baja en proteína, pero para asegurar un aporte adecuado de aminoácidos esenciales para el crecimiento se le alimentó con una mezcla de cetoácidos de treonina, metionina, leucina, isoleucina y valina. Después de cada alimentación, la niña de nuevo se tornó anormalmente somnolienta y notoriamente cetótica, con acidosis importante. Su concentración plasmática de amonio estuvo dentro del rango normal y una prueba de tolerancia a la glucosa resultó normal, con un incremento normal de la secreción de insulina después de la carga de glucosa.

La cromatografía líquida de alta presión del plasma reveló una concentración anormalmente alta de ácido propiónico (24 µmol/L; rango de referencia, 0.7 a 3.0 µmol/L). El análisis de orina mostró excreción considerable de metilcitrato (1.1 µmol/mg de creatinina), que en circunstancias normales es indetectable. La lactante también estuvo excretando una cantidad importante de acil carnitina de cadena corta (principalmente propionil carnitina) —28.6 µmol/24 h, en comparación con un rango de referencia de 5.7 + 3.5 µmol/24 h.

El metabolismo de una dosis de prueba de [^{13}C]propionato administrada por vía intravenosa lenta y continua se determinó en la paciente, sus padres, y un grupo de sujetos testigo; fibro-

CUADRO 57-7 Actividad de enzimas del ciclo de la síntesis de urea en muestras de biopsia hepática de la paciente en el caso 5 en el momento de la admisión y después de cuatro días de recibir una dieta alta en carbohidratos, baja en proteína, en comparación con las actividades en muestras *post mortem* de seis lactantes de la misma edad

	μmol de producto formado/minuto/mg de proteína		
	Paciente		Sujetos testigo
	En el momento de la admisión	Después de cuatro días	
Carbamoil fosfato sintetasa	0.337	1.45	1.30 ± 0.40
Ornitina carbamiltransferasa	29.0	28.6	18.1 ± 4.9
Argininosuccinato sintetasa	0.852	0.75	0.49 ± 0.09
Argininosuccinasa	1.19	0.95	0.64 ± 0.15
Arginasa	183	175	152 ± 56

blastos de la piel se cultivaron, y la actividad de la propionil CoA carboxilasa se determinó mediante incubación con propionato y $NaH^{14}CO_3$, seguida por acidificación y medición de la radiactividad en los productos. Los resultados se muestran en el **cuadro 57-8**.

La medición de la carnitina en la primera muestra de biopsia de hígado y en una muestra de biopsia de músculo dio los resultados que se muestran en el **cuadro 57-9**.

¿A qué conclusiones puede llegar a partir de estos resultados?

¿Puede explicar la base bioquímica de la enfermedad de la paciente?

CASO 6

La paciente es una niña de nueve meses de edad, la segunda hija de padres no emparentados. Nació a término después de un embarazo sin contratiempos, pesando 3.4 kilogramos y fue alimentada al seno materno, con introducción gradual de sólidos de los tres meses de edad en adelante. Su madre reportó que, si bien a la niña le gustaba el queso, la carne y el pescado, con frecuencia se tornaba irritable y llorona después de las comidas, y se observaba letárgica, soñolienta y "fláccida" después de comer cantidades relativamente grandes de alimentos ricos en proteína. La orina de la niña tenía un olor curioso, descrito por su madre como "parecido a gato" en esas ocasiones.

A los nueve meses de edad la lactante fue admitida a la sala de urgencias en coma y sufriendo convulsiones. No había estado bien durante los últimos tres días, con una fiebre leve y durante las últimas 12 horas había estado rechazando todos los alimentos y líquidos. En ese momento la lactante pesaba 8.8 kilogramos y su estatura era 70.5 centímetros.

CUADRO 57-8 Metabolismo del [^{13}C]propionato

	Paciente en el caso 5	Madre	Padre	Sujetos testigo
Porcentaje recuperado en $^{13}CO_2$ al cabo de 3 horas	1.01	32.6	33.5	65 ± 5
dpm fijo/mg de proteína de fibroblasto/30 minutos	5.0	230	265	561 ± 45

Los análisis de sangre urgentes revelaron acidosis moderada (pH de 7.25) hipoglucemia grave (glucosa < 1 mmol/L); una prueba con tira sumergible para cuerpos cetónicos en el plasma resultó negativa. Se obtuvo una muestra de sangre para análisis de química clínica completos y se le administró glucosa por vía intravenosa. En el transcurso de un período breve recuperó el conocimiento. Los resultados de los análisis de sangre se muestran en el **cuadro 57-10**.

La lactante permaneció en el hospital varias semanas, mientras se realizaron análisis adicionales. En general estuvo bien durante este tiempo, pero si se le privaba de alimentos durante más de alrededor de 8 a 9 horas presentaba somnolencia e hipoglucemia grave, e hiperventilación. El tono muscular era inadecuado y la lactante estaba muy débil, con considerable menos fuerza (p. ej., al empujar los brazos o las piernas contra la mano del pediatra) de la que se esperaría para una niña de su edad.

En una ocasión la glucosa en sangre se vigiló a intervalos de 30 minutos durante 3 horas desde que se despertó, sin ser alimentada. Disminuyó desde 3.4 mmol/L al despertarse hasta 1.3 mmol/L 3 horas más tarde. Al día siguiente se le privó otra vez del desayuno y de nuevo se midió la glucosa en sangre a intervalos de 30 minutos durante 3 horas, durante los cuales recibió una administración por vía intravenosa lenta de β-hidroxibutirato (50 μmol/minuto/kilogramo de peso corporal). Durante la administración de β-hidroxibutirato la concentración plasmática de glucosa permaneció entre 3.3 y 3.5 mmol/L.

En ningún momento se detectaron cuerpos cetónicos en la orina, y no hubo evidencia de excreción anormal de aminoácidos. Sin embargo, se detectaron varios ácidos orgánicos anormales en la orina, incluso cantidades relativamente grandes de ácidos 3-hidroxi-3-metilglutárico y 3-hidroxi-3-metilglutacónico. La excreción de estos dos ácidos aumenta considerablemente en dos circunstancias:

1. Cuando se dio a la lactante una comida relativamente alta en proteínas, la lactante se tornó llorona, letárgica e irritable. Una muestra de sangre obtenida después de esa comida mostró hiperamonemia importante (130 μmol/L), pero glucosa normal (5.5 mmol/L).

CUADRO 57-9 Carnitina en el hígado y el músculo

	Hígado		Músculo	
µmol/g de peso de tejido	Paciente en el caso 5	Sujetos testigo	Paciente en el caso 5	Sujetos testigo
Carnitina total	0.23	0.83 ± 0.26	1.56	2.29 ± 0.75
Carnitina libre	0.05	0.41 ± 0.17	0.29	1.62 ± 0.67
Acilcarnitina de cadena corta	0.16	0.37 ± 0.20	1.16	0.58 ± 0.32
Acilcarnitina de cadena larga	0.01	0.05 ± 0.02	0.11	0.09 ± 0.03

2. Cuando se le colocó en ayuno durante más que el ayuno nocturno normal, con o sin la administración de β-hidroxibutirato.

Un precursor metabólico obvio del ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico es la 3-hidroxi 3-metil glutaril CoA (HMG-CoA), que en circunstancias normales es dividida para dar acetoacetato y acetil-CoA por la enzima hidroximetilglutaril-CoA liasa (capítulo 22). Por ende, la actividad de esta enzima se cuantificó en leucocitos a partir de muestras de sangre de la paciente y de sus padres. Los resultados se muestran en el **cuadro 57-11**.

El análisis de la orina de la lactante también reveló excreción considerable de carnitina, como se muestra en el **cuadro 57-12**.

¿Cuál es la base bioquímica probable del problema de la paciente? ¿Hasta qué grado puede usted explicar sus diversos problemas metabólicos a partir de la información que se le ha dado?

¿Qué manipulación(es) de la dieta probablemente la mantendría(n) en buena salud y evitarían admisiones adicionales urgentes al hospital?

CASO 7

El paciente es un niño de nueve meses de edad, el segundo hijo de padres no emparentados; su hermano tiene cinco años de edad, está en buena forma y sano. El lactante nació a término después de un embarazo sin contratiempos, pesando 3.4 kg (la centila 50) y se desarrolló normalmente hasta los seis meses de edad, a partir de los cuales mostró cierto retraso del desarrollo. También presentó un exantema cutáneo con descamación fina alrededor de este período y el pelo, que había sido normal, se tornó delgado y escaso.

A los nueve meses de edad fue admitido a la sala de urgencias en coma; los resultados de los análisis de química clínica en una muestra de plasma se muestran en el **cuadro 57-13**.

La acidosis se trató mediante administración por vía intravenosa lenta y continua de bicarbonato y el paciente recuperó el conocimiento. Durante los siguientes días siguió mostrando signos de acidosis (respiración rápida) e incluso después de una comida hubo cuerpos cetónicos en la orina. El lactato, piruvato y los cuerpos cetónicos en el plasma permanecieron altos; la glucosa plasmática estuvo en el rango normal bajo y la insulina plasmática estuvo normal tanto en el estado de ayuno como después de una carga de glucosa por vía oral.

El análisis de orina reveló la presencia de cantidades importantes de varios ácidos orgánicos que normalmente no se excretan en la orina, entre ellos:

- Lactato, piruvato y alanina.
- Propionato, hidroxipropionato y propionil glicina.
- Metilcitrato.
- Tiglato y tiglilglicina.
- 3-Metil crotonato, 3-metilcrotonilglicina, y 3-hidroxiisovalerato.

El exantema cutáneo y la pérdida de pelo recordaron los signos de la deficiencia de biotina (capítulo 44) originada por consumo excesivo de claras de huevo crudas. No obstante, la madre manifestó que la lactante no comía huevos crudos o semicrudos en absoluto, aunque le gustaban los huevos cocidos y los extractos de levadura (que son fuentes ricas de biotina). La biotina plasmática fue de 0.2 nmol/L (normal, > 0.8 nmol/L), y excretó una cantidad importante de biotina en forma de biocitina (figura 44-17) y péptidos pequeños que contienen biocitina, que normalmente no son detectables en la orina.

CUADRO 57-10 Resultados de química clínica para una muestra de plasma de la paciente en el caso 6 en el momento de la admisión y rango de referencia para ayuno de 24 h

	Paciente en el caso 6	Rango de referencia
Glucosa, mmol/L	0.22	4-5
pH	7.25	7.35-7.45
Bicarbonato, mmol/L	11	21-29
Amonio, µmol/L	120	<50
Cuerpos cetónicos, mmol/L	no detectable	2.5-3.5
Ácidos grasos no esterificados, mmol/L	2	1.0-1.2
Insulina, mU/L	5	5-35
Glucagón, ng/ml	140	130-160

CUADRO 57-11 Actividad de HMG CoA liasa de leucocito, nmol de producto formado/minuto/g de proteína

Paciente en el caso 6	1.7
Madre	10.2
Padre	11.4
Sujetos testigo	19.7 ± 2.0

CUADRO 57-12 Excreción urinaria de carnitina, nmol/mg de creatinina

	Paciente en el caso 6	Rango de referencia
Carnitina total	680	125 ± 75
Carnitina libre	31	51 ± 40
Acil carnitina	649	74 ± 40

Se trató al lactante con 5 mg de biotina al día. Después de tres días, los ácidos orgánicos anormales ya no fueron detectables en la orina y el lactato, el piruvato y los cuerpos cetónicos en el plasma habían vuelto a lo normal, aunque su excreción de biocitina y de péptidos que contienen biocitina aumentó. A esta etapa se dio de alta al lactante del hospital, con un surtido de tabletas de biotina. Después de tres semanas el exantema cutáneo empezó a desaparecer y la pérdida de pelo cesó.

Tres meses más tarde, en una visita ambulatoria regular, se decidió suspender los complementos de biotina. En el transcurso de una semana, de nuevo se detectaron los ácidos orgánicos anormales en la orina y se trató al niño con dosis variables de biotina hasta que cesó la aciduria orgánica. Esto se logró a una ingestión de 150 µg/día (en comparación con la ingestión de referencia de 10 a 20 µg/día para un lactante de menos de dos años de edad).

Ha seguido tomando 150 µg de biotina al día y ha permanecido en buena salud durante los últimos cuatro años.

¿Puede explicar la base bioquímica del problema del paciente?

CASO 8

El paciente es una niña de cuatro años de edad, la hija única de padres no consanguíneos, nacida a término después de un embarazo sin contratiempos. A los 14 meses de edad se le admitió al hospital con vómito persistente, respiración rápida y superficial, y deshidratación, de un día de evolución. En el momento de la admisión, la frecuencia respiratoria era de 60/min y el pulso de 178/min. Los resultados de los análisis de química clínica en ese momento se muestran en la primera columna del **cuadro 57-14**. La paciente mostró respuesta rápida al bicarbonato por vía intravenosa y una inyección intramuscular única de insulina.

CUADRO 57-13 Resultados de química clínica para una muestra de plasma del paciente en el caso 7 en el momento de la admisión y rango de referencia para ayuno durante 24 h

	Paciente en el caso 7	Rango de referencia
Glucosa, mmol/L	3.3	3.5-5.5
pH	6.9	7.35-7.45
Bicarbonato, mmol/L	2.0	21-25
Cuerpos cetónicos, mmol/L	21	1-2.5
Lactato, mmol/L	7.3	0.5-2.2
Piruvato, mmol/L	0.31	<0.15

Los resultados de una prueba de tolerancia a la glucosa tres días después de la admisión fueron normales y su respuesta de insulina plasmática a una carga de glucosa por vía oral estuvo dentro del rango normal. Se dio de alta a la niña del hospital siete días después de la admisión, al parecer en forma y bien. Los resultados de análisis de química clínica efectuados poco antes del egreso se muestran en la segunda columna del cuadro 57-14.

Fue readmitida en el hospital a los 16, 25, 31 y 48 meses de edad, por presentar inquietud, marcha inestable, respiración rápida y superficial, vómitos persistentes y deshidratación. Cada vez la crisis fue precedida por una enfermedad común de la ni-

CUADRO 57-14 Resultados de química clínica para muestras de plasma y orina de la paciente en el caso 8 en el momento de la admisión y de nuevo una semana más tarde

	Admisión aguda	Una semana más tarde	Rango de referencia
Plasma			
Glucosa, mmol/L	14	5.1	3.5-5.5
Sodio, mmol/L	132	137	135-145
Cloruro, mmol/L	111	105	100-106
Bicarbonato, mmol/L	1.5	20	21-25
Urea, mmol/L	4.1	4.9	2.9-8.9
Lactato, mmol/L	7.3	5.5	0.5-2.2
Piruvato, mmol/L	0.31	0.25	<0.15
Alanina, mmol/L	-	852	99-313
Aspartato, mmol/L	-	Indetectable	3-11
pH	6.89	7.36	7.35-7.45
Orina			
Lactato, mg/g de creatinina	-	1.48	<0.1
Cuerpos cetónicos, usando Ketostix	Muy altos	Negativos	Negativos

CUADRO 57-15 Actividades de enzimas mitocondriales de fibroblastos de la piel en cultivo (nmol de producto formado/minuto/mg de proteína)

	Paciente en el caso 8	Sujetos testigo
Citrato sintasa	32.8	76.3 ± 15.1
Reducción de citocromo c por NADH	11.6	16.7 ± 4.6
Reducción de citocromo c por succinato	9.43	12.3 ± 3.2
Citocromo oxidasa	37.7	50.3 ± 11.6
NADH deshidrogenasa	633	910 ± 169
Piruvato carboxilasa	0.03	1.62 ± 0.39
Piruvato deshidrogenasa	1.86	1.72 ± 0.35
Succinato oxidasa	190	210 ± 30

ñez y apetito disminuido, y la paciente mostró buena respuesta a líquidos y bicarbonato por vía intravenosa. Varios episodios más leves fueron tratados en el hogar mediante líquido y bicarbonato por vía oral.

Durante su admisión a los 25 meses de edad, se obtuvo una biopsia cutánea, se cultivaron los fibroblastos, y se determinaron las actividades de enzimas mitocondriales que se muestran en el **cuadro 57-15**.

¿Puede explicar la base bioquímica de la enfermedad de la paciente?

CASO 9

El paciente es un niño de cinco años de edad que es diabético. Hay un antecedente familiar de diabetes, que sugiere fuertemente un patrón de herencia dominante. Secreta una cantidad importante de insulina, aunque menos que los sujetos normales, lo que sugiere que el problema no es diabetes tipo 1. A diferencia de la diabetes tipo 2, esta enfermedad aparece en etapas tempranas de la niñez y en general se denomina diabetes del joven, de inicio en la madurez (MODY).

Los resultados de estudios de la secreción de insulina por páncreas de conejo incubado *in vitro* con dos concentraciones de glucosa, con y sin la adición del azúcar de siete carbonos manoheptulosa, que es un inhibidor de la fosforilación de glucosa a glucosa-6-fosfato se muestran en el **cuadro 57-16**.

Dos enzimas catalizan la formación de glucosa 6-fosfato a partir de glucosa (capítulo 17):

- La hexocinasa es expresada en todos los tejidos; tiene una K_m para la glucosa de ~ 0.15 mmol/L.
- La glucocinasa sólo es expresada en el hígado y las células β del páncreas; tiene una KM para la glucosa de ~ 20 mmol/L.

El rango normal de glucosa plasmática es entre 3.5 y 5 mmol/L; en la sangre periférica aumenta hasta 8 a 10 mmol/L después de una ingestión moderadamente alta de glucosa. Después de una comida, la concentración de glucosa en la sangre portal, que viene del intestino delgado y va al hígado, puede ser considerablemente más alta que esto.

- **¿Qué efectos tendrán los cambios de la concentración plasmática de glucosa sobre la tasa de formación de glucosa-6-fosfato catalizada por hexocinasa?**
- **¿Qué efecto tendrán los cambios de la concentración plasmática de glucosa sobre la tasa de formación de glucosa-6-fosfato catalizada por glucocinasa?**
- **¿Cuál es la importancia de la glucocinasa en el hígado?**

Froguel y colaboradores (1993) reportaron estudios del gen que codifica para la glucocinasa en varias familias afectadas por MODY y en familias no afectadas. Publicaron una lista de 16 variantes del gen que codifica para la glucocinasa (**cuadro 57-17**). Todos sus pacientes con MODY tuvieron una anormalidad del gen.

- **¿Cuáles son los cambios de aminoácido asociados con cada mutación en el gen?**
- **¿Por qué las mutaciones que afectan los codones 4, 10 y 116 no tienen efectos sobre las personas afectadas?**
- **¿A qué convclusiones puede usted llegar a partir de esta información?**

CUADRO 57-16 Secreción de insulina (µg/minuto/incubación) por páncreas de conejo *in vitro*

	Testigo	+ Manoheptulosa
3.3 mmol/L de glucosa	3.5	3.5
16.6 mmol/L de glucosa	12.5	3.5

Fuente: tomado de datos reportados por Coore HG, Randle PJ: Biochemical J 1964;93:66-77.

CUADRO 57-17 Mutaciones del gen que codifica para la glucosa cinasa

Codón	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido	Efecto
4	GAC ⇒ AAC	?	Ninguno
10	GCC ⇒ GCT	?	Ninguno
70	GAA ⇒ AAA	?	MODY
98	CAG ⇒ TAG	?	MODY
116	ACC ⇒ ACT	?	Ninguno
175	GGA ⇒ AGA	?	MODY
182	GTG ⇒ ATG	?	MODY
186	CGA ⇒ TGA	?	MODY
203	GTG ⇒ GCG	?	MODY
228	ACG ⇒ ATG	?	MODY
261	GGG ⇒ AGG	?	MODY
279	GAG ⇒ TAG	?	MODY
300	GAG ⇒ AAG	?	MODY
300	GAG ⇒ CAG	?	MODY
309	CTC ⇒ CCC	?	MODY
414	AAG ⇒ GAG	?	MODY

Fuente: tomado de datos reportados por Froguel P, *et al*: N Engl J Med 1993;328:697-702.

CUADRO 57-18 Concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina antes y después de 60 minutos de administración de glucosa por vía intravenosa lenta y continua

	Glucosa plasmática (mmol/L)		Insulina (mU/L)	
	Pacientes con MODY	Sujetos testigo	Pacientes con MODY	Sujetos testigo
Ayuno	7.0 ± 0.4	5.1 ± 0.3	5 ± 2	6 ± 2
60 minutos de administración de glucosa	Mantenido en 10 mmol/L mediante tasa de administración variable		12 ± 7	40 ± 11

Source: From data reported by Froguel P, *et al*: N Engl J Med 1993;328:697–702.

Los mismos autores también estudiaron la secreción de insulina en respuesta a administración de glucosa por vía intravenosa lenta y continua en pacientes con MODY y sujetos testigo. Se les dio una administración de glucosa por vía intravenosa lenta y continua; la tasa de administración fue variada, de modo que se mantuviera una concentración plasmática constante de glucosa de 10 mmol/L. Las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina se midieron antes y después de 60 minutos de administración de glucosa por vía intravenosa lenta y continua; los resultados se muestran en el **cuadro 57-18**.

- **¿A qué conclusiones puede llegar a partir de esta información acerca del probable papel de la glucocinasa en las células β del páncreas?**
- **¿Puede deducir la manera en la cual las células β del páncreas detectan un incremento de la glucosa plasmática y señalizan la secreción de insulina?**

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

CAPÍTULO 58

Bioquímica del envejecimiento

Peter J. Kennelly, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las características esenciales de las teorías de desgaste, del envejecimiento.
- Listar al menos cuatro factores ambientales comunes que se sabe que dañan macromoléculas biológicas, como proteínas y DNA.
- Describir por qué las bases de nucleótido son en especial vulnerables a daño.
- Explicar la diferencia más importante desde el punto de vista fisiológico entre los genomas mitocondrial y nuclear.
- Comprender la teoría oxidativa del envejecimiento y listar las fuentes primarias de especies de oxígeno reactivas (ROS) en seres humanos.
- Listar tres mecanismos mediante los cuales las células evitan daño infligido por ROS o lo reparan.
- Entender los principios básicos de las teorías metabólicas del envejecimiento.
- Definir el mecanismo del "reloj de cuenta regresiva" del telómero.
- Describir el entendimiento actual de la contribución genética al envejecimiento.
- Explicar las implicaciones evolutivas de un lapso de vida codificado genéticamente.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Considere las diversas etapas en la vida del *Homo sapiens*. La lactancia y la niñez se caracterizan por crecimiento continuo en estatura y masa corporal. Se desarrollan habilidades motoras e intelectuales básicas: ambulación, lenguaje, etc. La lactancia y la niñez también representan un período de vulnerabilidad en el cual un joven depende de adultos para obtener agua, alimento, refugio, protección e instrucción. La adolescencia atestigua un brote final de crecimiento en la estructura esquelética del cuerpo. Lo que es más importante, ocurre una serie de notorios cambios vinculados con el desarrollo (una acumulación de masa muscular, pérdida de la "grasa de bebé" residual, maduración de las gónadas y del tejido cerebral, y la aparición de las características sexuales secundarias) que transforman al niño dependiente en un adulto fuerte, independiente y con capacidad reproductiva. La adultez, la etapa más prolongada, es un período carente de notorio crecimiento físico o de cambio drástico vinculado con el desarrollo. Con la notable excepción del embarazo en mujeres, con cierta frecuencia los adultos mantienen el mismo peso corporal, el aspecto general y la magnitud general de actividad durante dos o tres décadas.

Salvo en presencia de enfermedad o lesión mortal, el inicio de la etapa final de la vida, la vejez, es señalado por un resurgimiento de cambio físico y fisiológico. El pelo empieza a adelgazarse notablemente, y se torna de color blanco o gris conforme pierde su pigmentación. La piel pierde su elasticidad y acumula defectos. Los individuos parecen disminuir de tamaño, y hay pérdida progresiva de la masa tanto muscular como ósea. El lapso de atención y la capacidad de tener recuerdos declinan. Finalmente, de manera inevitable, la vida misma llega a su fin a medida que una o más funciones corporales esenciales dejan de operar.

El entendimiento de las causas subyacentes y de los desencadenantes del envejecimiento y los cambios que lo acompañan tiene gran importancia biomédica. Los síndromes de Hutchison-Gilford, Werner y Down son tres enfermedades genéticas de humanos cuya patología comprende aceleración de muchos de los eventos fisiológicos asociados con el envejecimiento. La lentificación o el cese de algunos de los procesos degenerativos que causan el envejecimiento o lo acompañan pueden hacer que la última etapa de la vida sea mucho más vital, productiva y plena. El dominio de los factores de los cuales depende el desencadenamiento de la muerte celular tal vez permita a los médicos destruir de manera selectiva tejidos y células perjudiciales como tumores, pólipos y quistes sin daño colateral a tejidos sanos.

LAPSO DE VIDA EN CONTRAPOSICIÓN CON LONGEVIDAD

Desde la época paleolítica, pasando por la edad de oro de Grecia, hasta la era medieval, la esperanza de vida promedio para un recién nacido permaneció relativamente constante; osciló dentro del rango de 25 a 35 años. A partir del Renacimiento, este número ha aumentado de manera gradual, de modo que para el principio del siglo xx la esperanza de vida promedio de personas nacidas en países en desarrollo alcanzó alrededor de 45 años. Hoy, 100 años más tarde, el promedio mundial es de 67 años y para naciones desarrolladas se acerca a 80. Esto ha llevado a especulación en la prensa popular acerca de cuánto tiempo podría esperarse que esta tendencia continúe. ¿Las generaciones futuras pueden esperar vivir más allá de la marca de un siglo? ¿Es posible que los humanos posean el potencial, salvo en presencia de accidentes y con cuidado y mantenimiento apropiados, de vivir por tiempo indefinido?

Lamentablemente, es poco probable que esta extrapolación se haga realidad porque se basa en un malentendido del término **esperanza de vida**. La esperanza de vida se calcula al promediar todos los nacimientos, por ende, está influida de manera notoria por las tasas de mortalidad de lactantes. Mientras que la esperanza de vida de un niño romano era de 25 años, si se calcula el lapso de vida esperado sólo para las personas que sobrevivieron a la lactancia, que se denominará **longevidad**, el promedio casi se duplicó a 48. Cuando se elimina del cálculo la declinación notoria de las tasas de mortalidad de lactantes que ha tenido lugar durante el siglo y medio pasados, la duplicación aparente del lapso de vida de las personas queda casi anulada, aunque no del todo. Como lo muestra el **cuadro 58-1**, la longevidad predicha de un niño de cinco años de edad en EU ha aumentado desde 70.5 en 1950 hasta 77.5 años en 2000. ¿Hay alguna clase de límite superior para el lapso de vida de un humano bien mantenido, nutrido de manera apropiada? Tal vez no.

CUADRO 58-1 Esperanza de vida promedio por década, Estados Unidos

Periodo muestra	Esperanza de vida promedio (años)	
	Desde el nacimiento	Si sobrevivió hasta los 5 años de edad
1900-1902	49.24	59.98
1909-1911	51.49	61.21
1919-1921	56.40	62.99
1929-1931	59.20	64.29
1939-1941	63.62	67.49
1949-1951	68.07	70.54
1959-1961	69.89	72.04
1969-1971	70.75	72.43
1979-1981	73.88	75.00
1989-1991	75.37	76.22
1999-2001	76.83	77.47

Fuente: Adaptado de Table 12 del *National Vital Statistics Reports* (2008) 57, vol. 1.

ENVEJECIMIENTO Y MORTALIDAD: ¿PROCESOS INESPECÍFICOS O PROGRAMADOS?

¿El envejecimiento y la muerte son procesos no determinantes o **estocásticos** en los cuales las criaturas vivas inevitablemente alcanzan un momento crítico en el cual sucumben a una acumulación de daño por enfermedad, lesión y el simple desgaste, durante toda una vida? Si bien el organismo humano tiene cierta capacidad para reparar y reemplazar en los ámbitos molecular y celular, esta capacidad es variable y finita. Al margen de qué tanta atención se dedique al cuidado y el mantenimiento, como un automóvil o algún otro dispositivo mecánico sofisticado, tarde o temprano algún componente clave del cuerpo del humano se desgastará. Una corriente de opinión alternativa plantea que el envejecimiento y la muerte son procesos programados genéticamente, análogos a la pubertad, que han evolucionado por medio de un proceso de selección natural.

Lo más probable es que el envejecimiento y la muerte sean procesos multifactoriales a los cuales muchos factores, algunos no determinantes y otros programados, hacen contribuciones importantes. Si bien queda mucha investigación por hacer antes de que sea posible determinar la conformación precisa de este mosaico mecanístico, se ha identificado un rango grande de contribuidores potenciales. Varios de los más prominentes de éstos se presentan en las secciones que siguen.

TEORÍAS DE DESGASTE Y DEL ENVEJECIMIENTO

Muchas teorías respecto al envejecimiento y la mortalidad plantean la hipótesis de que el cuerpo humano finalmente sucumbe a la acumulación de daño con el tiempo debido a diversos factores ambientales que son reactivos con biomoléculas orgánicas. Esas teorías notan que si bien hay mecanismos de reparación y recambio para restituir o reemplazar muchas clases de moléculas dañadas, estos mecanismos no son absolutamente perfectos. En consecuencia, cierto daño se filtra, daño que inevitablemente se acumulará con el tiempo, en particular en poblaciones de células de vida prolongada que experimentan poco recambio, si es que lo experimentan (**cuadro 58-2**). Irónicamente, muchos de los agentes que son más perjudiciales para las proteínas, el DNA y otras biomoléculas, también son esenciales para la vida terrestre: agua, oxígeno y luz solar.

Las reacciones hidrolíticas pueden dañar proteínas y nucleótidos

El agua es un nucleófilo relativamente débil; sin embargo, debido a su presencia omnipresente y concentración alta (>55 M, véase el capítulo 2), incluso este nucleófilo débil reaccionará con blancos susceptibles dentro de la célula. En proteínas, la hidrólisis de enlaces peptídicos lleva a división de la cadena polipeptídica. Los enlaces amida más frecuentemente establecidos como objetivo por el agua son los que se encuentran en las cadenas laterales de los aminoácidos asparagina y glutamina, quizá porque están más expuestos, en promedio, a solvente que los enlaces amida en el esqueleto de la proteína. La hidrólisis lleva

CUADRO 58-2 Tiempo requerido para que todas las células promedio de este tipo sean reemplazadas

Tipo de tejido o célula	Recambio
Epitelio intestinal	34 h[1]
Epidermis	39 días[2]
Leucocito	<Un año[3]
Adipocitos	9.8 años[3]
Músculo esquelético intercostal	15.2 años[3]
Cardiomiocitos	≥ 100 años[3]

Fuente: Datos tomados de:
[1] Potten CS, Kellett M, Rew DA, *et al.*: Proliferation in human gastrointestinal epithelium using bromodeoxyuridine *in vivo*. Gut 1992; 33:524.
[2] Weinstein GD, McCullough JL, Ross P: Cell proliferation in normal epidermis. J Invest Dermatol 1984; 82:623.
[3] Spalding KL, Arner E, Westermark PO, *et al.*: Dynamics of fat cell turnover in humans. Nature 2008; 453:783.

al reemplazo del grupo amida neutro con un grupo carboxílico ácido, lo que forma aspartato y glutamato, respectivamente (**figura 58-1**, partes A y B). Este cambio lleva a la introducción tanto de una carga negativa como de un donador o receptor de protón potencial a la región afectada de la proteína. Dado que la población de proteína dentro de un organismo vivo está sujeta a recambio continuo, en la mayor parte de los casos la proteína químicamente modificada será degradada y reemplazada por una proteína recién sintetizada.

Quizá tienen más consecuencias biológicas potenciales las reacciones de las bases nucleótido en el DNA con agua. Los grupos amino que se proyectan desde los anillos aromáticos heterocíclicos de las bases de nucleótido citocina, adenina y guanina son, cada uno, susceptibles a ataque hidrolítico; en cada caso, el grupo amino queda reemplazado por un carbonilo para formar uracilo, hipoxantina y xantina, respectivamente (figura 58-1, parte C). Si la base afectada está ubicada en el DNA de la célula, el resultado neto es una mutación que, si se deja sin reparar, puede perturbar en potencia la expresión génica o producir un producto de gen disfuncional. El enlace entre la base de nucleótido y la porción desoxirribosa en el DNA también es vulnerable a hidrólisis. En este caso la base es eliminada por completo y deja una brecha en la secuencia (figura 58-1, parte D) que, si se deja sin reparar, puede llevar a una mutación por sustitución o por cambio de cuadro (capítulo 37).

Muchos otros enlaces dentro de macromoléculas biológicas también poseen el potencial de ser divididos por hidrólisis quí-

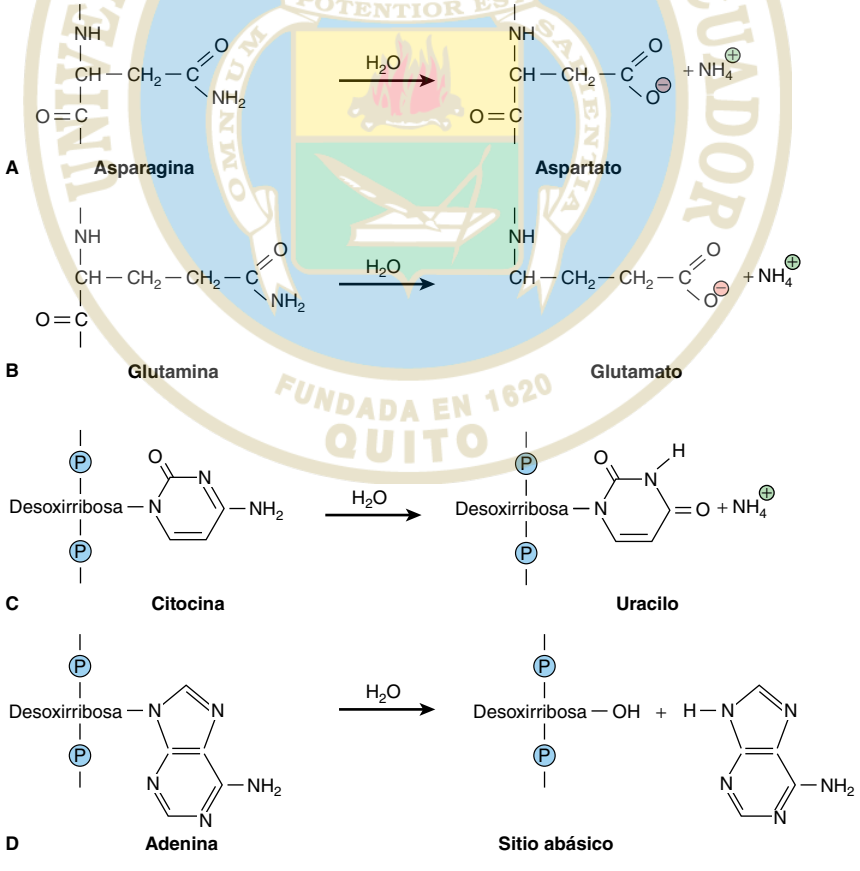


FIGURA 58-1 Ejemplos de daño hidrolítico de macromoléculas biológicas. Se muestran algunas de las maneras en las cuales el agua puede reaccionar con proteínas y DNA, y alterarlos químicamente: **A)** Sustitución neta de ácido aspártico por medio de desaminación hidrolítica de la cadena lateral neutra de la asparagina. **B)** Sustitución neta de ácido glutámico por medio de desamidación hidrolítica de la cadena lateral neutra de la glutamina. **C)** Mutación neta de citosina a uracilo por agua. **D)** Formación de un sitio abásico en el DNA por medio de división hidrolítica de un enlace de base ribosa.

mica al azar. En esta lista se incluyen los enlaces éster que unen ácidos grasos a sus glicerolípidos cognados, los enlaces glucosídicos que enlazan las unidades monosacárido de carbohidratos, y los enlaces fosfodiéster que sostienen juntos polinucleótidos y enlazan los grupos cabeza de fosfolípidos a sus parejas diacilglicerol. Empero, estas reacciones parecen tener lugar con demasiada poca frecuencia (p. ej., la hidrólisis de fosfodiéster unida con el esqueleto de DNA y RNA) o generar productos insuficientemente perturbadores como para que manifiesten consecuencias biológicas importantes.

La respiración genera especies de oxígeno reactivas

Muchos procesos biológicos requieren oxidación (catalizada por enzima) de moléculas orgánicas por oxígeno molecular (O_2). Estos procesos incluyen la hidroxilación de cadenas laterales de prolina y lisina en el colágeno (capítulo 5), la destoxificación de xenobióticos por el citocromo P450 (capítulo 47), la degradación de nucleótidos de purina a ácido úrico (capítulo 33), la reoxidación de los grupos prostéticos en las enzimas que contienen flavina que catalizan la descarboxilación oxidativa (p. ej., el complejo de piruvato deshidrogenasa, capítulo 17) y otras reacciones redox (p. ej., aminoácido oxidasas, capítulo 28), y la generación del gradiente quimiosmótico en mitocondrias por la cadena de transporte de electrones (capítulo 13). Las enzimas redox a menudo emplean grupos prostéticos como nucleótidos de flavina, centros de hierro-azufre o iones metálicos unidos a hem (capítulos 12 y 13) para ayudar en la difícil tarea de generar el radical libre altamente reactivo e intermediarios oxianión formados durante la catálisis y estabilizarlos. En la cadena de transporte de electrones se emplean transportadores especializados como la ubiquinona y citocromos para transportar sin riesgos electrones únicos, no pareados, entre sus diversos complejos multiproteínicos y dentro de los mismos.

En ocasiones estos intermediarios altamente reactivos escapan hacia la célula en la forma de ROS como superóxido y peróxido de hidrógeno (**figura 58-2**, parte A). En virtud de su complejidad estructural y funcional, y flujo de electrones en extremo alto, el "escape" desde la cadena de transporte de electrones constituye con mucho la principal fuente de ROS en casi todas las células de mamífero. Además, muchas células de mamífero sintetizan y liberan el segundo mensajero óxido nítrico (NO), que contiene un electrón no pareado, para promover la vasodilatación y relajación muscular en el sistema cardiovascular (capítulo 51).

Las especies de oxígeno reactivas son prolíficas desde el punto de vista químico

La reactividad en extremo alta de las ROS las hace en extremo peligrosas. Las ROS pueden reaccionar con casi cualquier compuesto orgánico, incluso proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, y alterarlo químicamente. En algunos casos, la reacción lleva a la división de enlaces covalentes. También muestran una fuerte tendencia a formar **aductos**, los productos de la adición de dos (o más) compuestos, con bases de nucleótido, ácidos grasos poliinsaturados y otros compuestos biológicos que poseen múltiples dobles enlaces (**figura 58-3**). Los aductos formados con bases

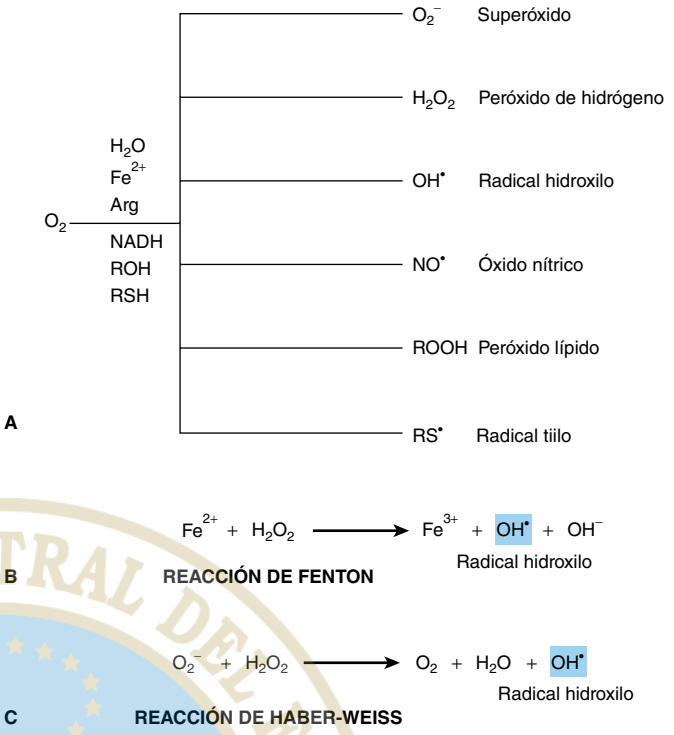


FIGURA 58-2 Las especies de oxígeno reactivas (ROS) son subproductos tóxicos de la vida en un ambiente aeróbico. A) Muchos tipos de ROS se encuentran en las células vivas. **B)** Generación de radical hidroxilo por medio de la reacción de Fenton. **C)** Generación de radical hidroxilo mediante la reacción de Haber-Weiss.

de nucleótido pueden ser en especial peligrosos debido a su potencial, si se dejan sin corregir, de causar lecturas erróneas que introducen mutaciones en el DNA.

La facilidad con la cual el oxígeno produce los cambios químicos que arrancian la mantequilla casera es un testimonio de la reactividad de grasas insaturadas, las que contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono (capítulo 23) con ROS. La peroxidación lipídica puede llevar a la formación de aductos de lípido-lípido y lípido-proteína con enlaces covalentes, y una pérdida de la fluidez de la membrana y de la integridad de la misma. La pérdida de la integridad de la membrana, a su vez, puede (en el caso de las mitocondrias) socavar la eficiencia con la cual la cadena de transporte de electrones convierte equivalentes reductores en ATP, lo que lleva a más producción de ROS perjudiciales. La pérdida de la integridad de la membrana también puede desencadenar **apoptosis**, la muerte programada de una célula.

Reacciones en cadena multiplican la destructividad de ROS

La destructividad inherente en la reactividad alta de muchas de estas ROS, en particular radicales libres, es exacerbada por su capacidad para participar en reacciones en cadena en las cuales el producto de la reacción entre el radical libre y alguna biomolécula es una biomolécula dañada y otra especie que contiene un electrón no pareado altamente reactivo. La cadena terminará cuando un radical libre es capaz de adquirir otro electrón solitario para formar un par de electrones relativamente inocuo sin generar un nuevo electrón no pareado como un subproducto. Tal

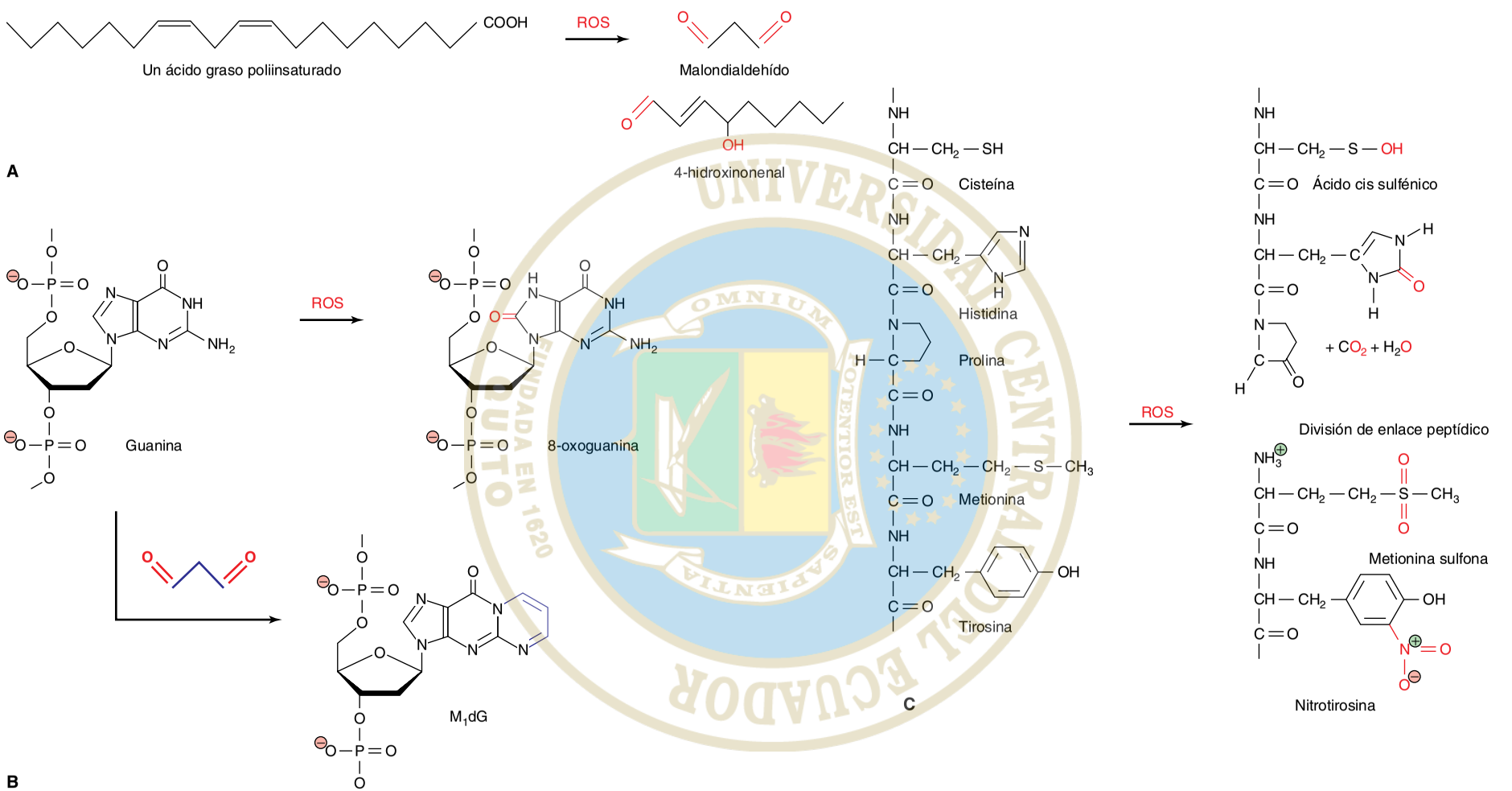


FIGURA 58-3 **Las ROS reaccionan de manera directa e indirecta con una amplia gama de moléculas biológicas. A)** La peroxidación de lípidos insaturados genera productos reactivos, como malondialdehído y 4-hidroxinonenal. **B)** La guanina puede ser oxidada de manera directa por ROS para producir 8-oxoguanina o formar un aducto, M_1dG, con el producto de ROS malondialdehído. **C)** Reacciones comunes de proteínas con ROS, incluso oxidación de cadenas laterales de aminoácidos y división de enlaces peptídicos. Los átomos de oxígeno derivados de ROS están marcados en rojo. Los átomos de carbono derivados del malondialdehído en M_1dG están coloreados de azul. El nombre químico completo del M_1dG es 3-(2-desoxi-D-*eritro*-pentofuranosil)pirimido(1,2-α)purina-10(3*H*)-ona.

es el caso cuando un radical libre encuentra otro. Los dos electrones "impares" se combinan para formar un par. De manera alternativa, las ROS pueden quedar eliminadas mediante una del juego de enzimas antioxidantes dedicadas de la célula (capítulos 12 y 53).

La reactividad, y por ende la destructividad, de ROS individuales varía. El peróxido de hidrógeno, por ejemplo, es menos reactivo que el superóxido, que a su vez es menos reactivo que el radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$). Lamentablemente, existen dos vías en organismos vivos mediante las cuales el radical hidroxilo altamente tóxico puede generarse a partir de ROS menos destructivas. Por ejemplo, si hay hierro férrico presente, la reacción de Fenton puede transformar peróxido de hidrógeno en radicales hidroxilo (figura 58-2, parte B). A su vez, el hierro ferroso (+3) puede ser reducido de regreso al estado férrico (+2) por otras moléculas de peróxido de hidrógeno, lo que permite que el hierro actúe de manera catalítica para producir radicales hidroxilo adicionales. El radical hidroxilo también puede generarse cuando el superóxido y el peróxido de hidrógeno están desproporcionados, un proceso llamado la reacción de Haber-Weiss (figura 58-2, parte C).

Los radicales libres y la teoría mitocondrial del envejecimiento

En 1956, Denham Harmon propuso la llamada teoría de los radicales libres del envejecimiento. Se había reportado que la toxicidad del tratamiento con oxígeno hiperbárico y radiación podría explicarse por un factor común a ambos, la generación de ROS. Este reporte encajó muy bien con la observación propia de Harmon de que el lapso de vida estaba relacionado de manera inversa con el índice metabólico y, por extrapolación, con la respiración. Por ende, postuló que el daño acumulativo se origina por la producción continua e inevitable de ROS.

En años más recientes, los defensores de la teoría de los radicales libres del envejecimiento han enfocado la atención en las mitocondrias. La mitocondria no sólo es el huésped de la principal fuente de ROS en la célula, la cadena de transporte de electrones, sino que el daño oxidativo de los componentes de esta vía puede llevar a incremento del escape de peróxido de hidrógeno, superóxido, etc., hacia el citoplasma. El daño de las mitocondrias probablemente afectaría de modo adverso la eficiencia con la cual desempeña su función más importante, la síntesis de ATP. Una lentificación importante de la tasa de síntesis de ATP podría fácilmente llevar a los tipos de declinaciones a gran escala de la función fisiológica que ocurren en el envejecimiento.

Un segundo contribuidor al ciclo que se autoperpetúa de daño mitocondrial por redox es el hecho de que varios componentes de la cadena de transporte de electrones son codificados por el genoma propio de la mitocondria. El genoma mitocondrial es un remanente vestigial muy reducido del genoma de la bacteria antigua que fue el precursor del orgánulo actual. Por medio de un proceso llamado **endosimbiosis**, los eucariontes primitivos se hicieron dependientes de bacterias circundantes para que les proporcionaran ciertos materiales y viceversa. Finalmente, la bacteria de menor tamaño fue absorbida por su huésped eucarionte y vivió en el interior del mismo. Con el tiempo casi todos los genes contenidos en el genoma bacteriano, pero no todos, fueron eliminados por ser superfluos para las necesidades del nuevo organismo de fusión, o fueron transferidos hacia el DNA nuclear de la célula huésped. En la actualidad, el genoma de la mitocondria del ser humano codifica para un RNA ribosómico pequeño y para uno grande, 22 tRNA, y subunidades polipeptídicas para los complejos I, III y IV de la cadena de transporte de electrones, así como para la F_1, F_0 ATPasa (**cuadro 58-3**). El genoma mitocondrial carece de los mecanismos de vigilancia y reparación que ayudan a mantener la integridad del DNA nuclear. En consecuencia, las mutaciones inducidas por aductos o la reacción con ROS, y cualesquiera defectos funcionales que se producen por estas mutaciones, se convierten en una característica permanente del genoma de la mitocondria de cada individuo, que seguirá acumulando mutaciones con el tiempo.

CUADRO 58-3 Genes codificados por el genoma de mitocondrias de ser humano

rRNA	rRNA 12S, 16S
tRNA	22 tRNA (2 para Leu y Ser)
Subunidades de NADH-ubiquinona oxidorreductasa (complejo I, > 40 en total)	ND 1 a 6, ND 4L
Subunidades de ubiquinol-citocromo c oxidorreductasa (complejo III, 11 en total)	Citocromo b
Subunidades de citocromo oxidasa (complejo IV, 13 en total)	COX I, COX II, COX III
Subunidades de la F_1, F_0 ATPasa (ATP sintasa, 12 en total)	ATPasa 6, ATPasa 8

Si bien ya no se considera que la hipótesis mitocondrial proporcione una explicación unificante para todos los cambios que se asocian con el envejecimiento del ser humano y sus comorbilidades, probablemente es un contribuidor de importancia. Evidencia circunstancial poderosa para esto es proporcionada por el papel fundamental desempeñado por este orgánulo en las vías de detector-respuesta que desencadenan la apoptosis.

Las mitocondrias son participantes clave en la apoptosis

La apoptosis otorga a organismos superiores la capacidad para eliminar de manera selectiva células que se hacen superfluas por cambios vinculados con el desarrollo, como los que tienen lugar de manera continua durante la embriogénesis, o que han quedado dañadas a un grado que hace imposible la reparación. Durante el remodelado de tejido vinculado con el desarrollo, el programa de muerte celular apoptótica es desencadenado por señales mediadas por receptor. En el caso de células dañadas, cualquiera de varios indicadores interiores puede servir como desencadenante: ROS, dsRNA viral, daño de DNA y choque por calor. Estas señales desencadenan la abertura del complejo de poro de transición de permeabilidad embebido en la membrana mitocondrial externa, a través del cual moléculas de la proteína transportadora de electrones pequeña (≈ 12.5 kDa) citocromo c escapa hacia el citoplasma. Aquí, el citocromo c sirve como la proteína central para nuclear un complejo multiproteínico, llamado el apoptosoma, que inicia una cascada de eventos de activa-

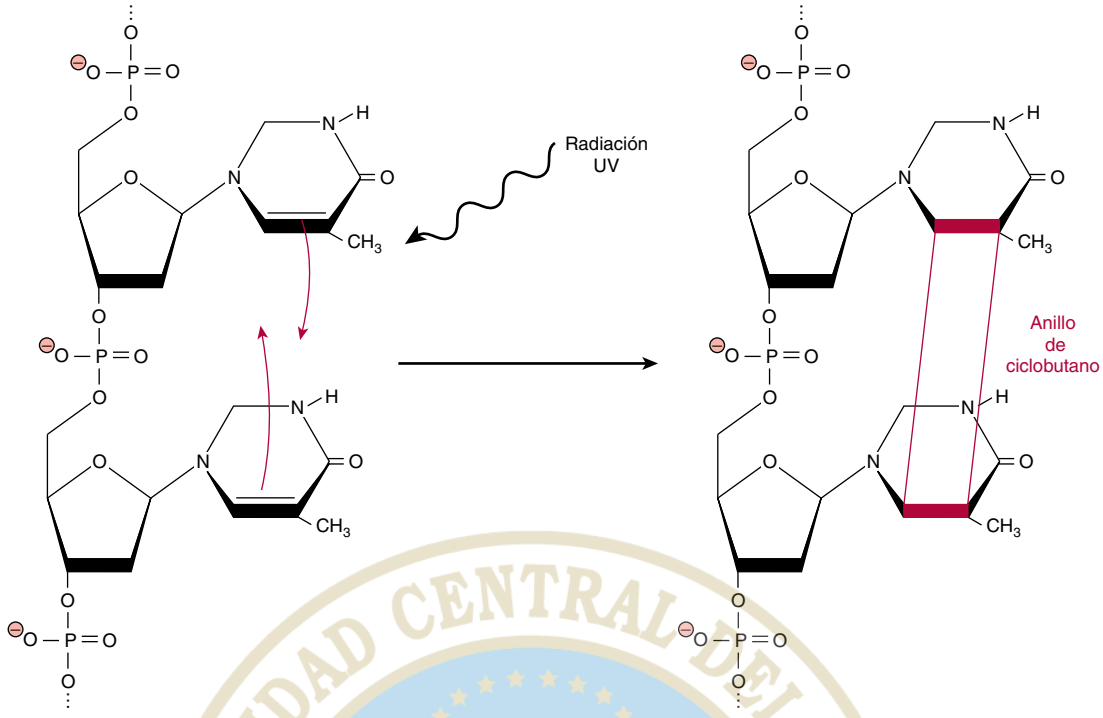


FIGURA 58-4 **Formación de un dímero de timina después de excitación por luz UV.** Cuando bases de timina consecutivas están apiladas en una doble hélice del DNA, la absorción de luz UV puede llevar a la formación de un anillo ciclobutano (de color rojo, no a escala) que enlaza de manera covalente las dos bases juntas para formar un dímero de timina.

ción proteolíticos dirigidos a las formas proenzima de una serie de cisteína proteasas conocidas como caspasas. Las caspasas terminales, números 3 y 7, desintegran proteínas estructurales en el citoplasma, y proteínas de la cromatina en el núcleo; estos eventos llevan a la muerte de la célula afectada y su eliminación mediante fagocitosis. No hace falta decir que la presencia de una vía de muerte celular mediada por receptor, intrínseca, ofrece la esperanza de que sea posible eliminar células perjudiciales, como cáncer, al aprender cómo activar de manera selectiva su vía apoptótica.

La radiación ultravioleta puede ser en extremo perjudicial

El término **radiación ultravioleta (UV)** se refiere a las longitudes de onda de luz que yacen inmediatamente más allá del extremo de longitud de onda azul o corta del espectro visible. Si bien el ojo humano no puede detectar estas longitudes de onda de luz particulares, son fuertemente absorbidas por compuestos orgánicos que poseen anillos aromáticos, o múltiples dobles enlaces conjugados, como las bases de nucleótido del DNA y el RNA; las cadenas laterales aromáticas de los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano; ácidos grasos poliinsaturados; grupos hem, y cofactores y coenzimas, como flavinas, cianocobalamina, etc. La absorción de esta luz de longitud de onda corta, de alta energía, causa la rotura de enlaces covalentes en proteínas, DNA y RNA; la formación de dímeros de timina en el DNA (**figura 58-4**); la formación de enlaces covalentes de proteínas y la generación de radicales libres, incluso de ROS. Si bien la radiación UV no penetra más allá de las primeras capas de las células cutáneas, la eficiencia alta de absorción lleva a la acumulación rápida de daño de la limitada población de células de la piel a las que llega. Dado que las bases de nucleótidos del DNA y el RNA son en particular eficientes para absorber la radiación UV, es altamente mutagénica. La exposición prolongada a la luz solar intensa puede llevar a la acumulación de múltiples lesiones de DNA que pueden abrumar la capacidad de reparación intrínseca de una célula. Así, es relativamente común que las personas cuyo trabajo o estilo de vida involucra exposición prolongada a la luz del Sol manifiesten tejido cutáneo aberrante, en forma tanto de lunares como de melanomas cancerosos. Muchos de estos últimos pueden proliferar y diseminarse con gran rapidez, lo que requiere vigilancia cuidadosa e intervención médica rápida.

La glucación de proteína a menudo lleva a la formación de enlaces covalentes perjudiciales

Cuando aminoácidos como los que se encuentran en la cadena lateral de la lisina o en algunas de las bases de nucleótidos quedan expuestos a un azúcar reductor, como la glucosa, se genera lentamente un aducto reversible mediante la formación de una base de Schiff entre el grupo aldehído o cetona del azúcar y la amina. Con el tiempo, la proteína glucada pasa por una serie de reordenamientos para formar productos de **Amadori**, que contienen un doble enlace carbono-carbono conjugado que puede reaccionar con el grupo amino en una proteína vecina (**figura 58-5**). El resultado neto es la formación de un enlace covalente entre dos proteínas u otras macromoléculas biológicas que, a su vez, pasan por glucación adicional y se unen con enlaces covalentes a aún otra macromolécula. Estos agregados unidos por enlaces covalentes reciben el nombre de **productos terminales de glucación avanzada** (**AGE**).

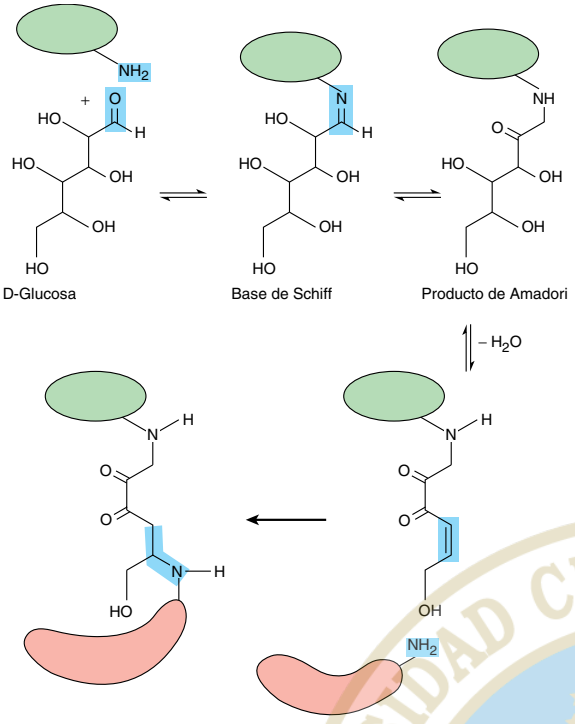


FIGURA 58-5 La glucación de proteína puede llevar a la formación de enlaces covalentes proteína-proteína. Se muestra la secuencia de reacciones que genera el producto de Amadori sobre la superficie de la proteína marcada en color verde, y la formación subsiguiente de un enlace covalente proteína-proteína por medio de un grupo amino en la superficie de una segunda proteína, de color rojo.

Las repercusiones fisiológicas de la glucación de proteína pueden ser en especial pronunciadas cuando están involucradas proteínas de vida prolongada, como el colágeno o β-cristalinas. Su persistencia brinda la oportunidad de que ocurran múltiples eventos de glucación y de formación de enlaces covalentes. La formación de enlaces covalentes progresiva de la red de colágeno en las células endoteliales vasculares lleva a la pérdida progresiva de elasticidad y a engrosamiento de la membrana basal en vasos sanguíneos, lo que promueve la formación de placa. El resultado general es un incremento progresivo de la carga de trabajo del corazón. En el ojo, la acumulación de proteínas agregadas pone en peligro la transparencia del cristalino, y con el tiempo se manifiesta por sí misma en la forma de cataratas. El deterioro de la homeostasis de la glucosa hace a los diabéticos en especial susceptibles a la formación de productos terminales de glucación avanzada. De hecho, la glucación de la hemoglobina y de la albúmina sérica se usa como biomarcador para el diagnóstico de diabetes y la evaluación de su tratamiento.

MECANISMOS DE REPARACIÓN MOLECULARES COMBATEN EL DESGASTE

Mecanismos enzimáticos y químicos interceptan ROS perjudiciales

Un corolario para la teoría del desgaste, del envejecimiento, es que la longevidad refleja la eficacia y la robustez de los mecanismos de prevención, reparación y reemplazo moleculares en una especie dada y los individuos dentro de ella. Enzimas como la superóxido dismutasa y la catalasa protegen a la célula al convertir superóxido y peróxido de hidrógeno, respectivamente, en productos menos reactivos, lo que previene daño molecular potencial (capítulo 53). Por ejemplo, moscas de la fruta que han sido alteradas genéticamente para que expresen cifras altas de superóxido dismutasa muestran lapsos de vida significativamente extendidos.

En el citoplasma, el tripéptido que contiene cisteína, glutatión, actúa como un protector redox químico al reaccionar de manera directa con ROS para generar compuestos menos reactivos, como agua. El glutatión oxidado, que consta de dos tripéptidos enlazados por un enlace S-S, a continuación es reducido mediante enzimas para mantener el fondo común de protector (capítulo 53). El glutatión también puede reaccionar de manera directa con ácidos sulfénicos cisteína y disulfuros en proteínas para restituirlos a su estado reducido, y formar aductos con xenobióticos tóxicos (capítulo 47). Otras biomoléculas, como el ácido ascórbico y la vitamina E, también poseen propiedades antioxidantes, lo cual explica el hecho de que muchas dietas "populares" se dirigen a alimentos ricos en estos compuestos en un esfuerzo por apoyar la capacidad del organismo para neutralizar ROS y lentificar el envejecimiento.

La integridad del DNA es mantenida mediante mecanismos de corrección de pruebas y reparación

Además de las medidas profilácticas antes mencionadas, los organismos vivos poseen una capacidad limitada para reemplazar macromoléculas dañadas o repararlas. Casi toda esta capacidad se dirige a mantener la integridad del genoma nuclear (no así del mitocondrial), lo cual es de esperarse dada la singular función de almacenamiento de información del DNA, la vulnerabilidad de las bases de nucleótidos aromáticas heterocíclicas a ataques por sustancias químicas y radiación UV, y el hecho de que (en contraste con casi cualquier otra macromolécula) cada célula contiene sólo una copia de cada cromosoma. Una **célula somática** es aquella que forma parte del cuerpo de un organismo. El mantenimiento de la integridad del genoma empieza en el momento de la replicación, donde se realiza corrección de pruebas cuidadosa a fin de asegurar que el nuevo genoma formado en el proceso de división de células somáticas replique fielmente la plantilla que dirigió su síntesis. Además, casi todos los organismos vivos poseen un impresionante conjunto de enzimas cuyo papel es inspeccionar y corregir aberraciones que escaparon a la corrección de pruebas o que se generaron después por la acción de agua (roturas bicatenarias, pérdida de una base de nucleótido y desaminación de citocina), radiación UV (dímeros de timina y roturas de cadena) o exposición a modificadores químicos (formación de aducto). Este sistema de múltiples capas está compuesto de enzimas de reparación de errores de emparejamiento, enzimas de reparación por escisión de nucleótido y enzimas de reparación por escisión de base, así como el sistema Ku para reparar roturas bicatenarias en el esqueleto de fosfodiéster (capítulo 35). Como un último recurso, las células que albergan mutaciones perjudiciales quedan sujetas a eliminación mediante apoptosis.

Con todo, a pesar de las muchas precauciones que se toman para asegurar la fidelidad durante la replicación y para reparar el daño subsiguiente antes listado, inevitablemente algunas mutaciones escapan a estos mecanismos. De hecho, se requiere de algo de escape del sistema de vigilancia y reparación para generar la variabilidad genética que impulsa la evolución. La **teoría de la mutación somática, del envejecimiento**, propone que también sirve para satisfacer un segundo propósito como un impulsor del proceso de envejecimiento. Expresado en palabras sencillas, la acumulación de células mutantes con el tiempo inevitablemente debe llevar a función biológica alterada que se manifiesta por sí misma, al menos en parte, como los cambios físicos que las personas asocian con el envejecimiento.

Algunos tipos de daño de proteína pueden repararse

En contraste con el DNA, la capacidad de la célula para reparar daño de otras biomoléculas es relativamente limitada. En su mayor parte, las células parecen depender de recambio sistemático, en el cual la población global de una biomolécula dada es degradada y reemplazada por síntesis nueva de manera continua, o constitutiva (capítulo 9), para eliminar lípidos, carbohidratos y proteínas aberrantes. Algunas proteínas, en particular las proteínas fibrosas que contribuyen a la integridad estructural de tendones, ligamentos, huesos, matriz, etc., pasan por poco recambio, si es que pasan por alguno. Estas proteínas de vida prolongada tienden a acumular daño al cabo de muchos años, lo que contribuye a la pérdida de la elasticidad en tejidos vasculares y en articulaciones, la pérdida de la transparencia del cristalino, etc. Los mecanismos más prominentes para la reparación de proteínas dañadas establecen como objetivo los átomos de azufre contenidos en las cadenas laterales de cisteína y metionina, y los grupos isoaspartilo formados por el cambio del enlace peptídico a grupo carboxilo de cadena lateral.

El grupo sulfhidrilo de cadena lateral de la cisteína a menudo desempeña importantes papeles catalíticos, reguladores y estructurales en proteínas que dependen de su estado de oxidación. Aun así, tanto su grupo sulfhidrilo como el éter sulfúrico de la metionina son en extremo vulnerables a la oxidación (figura 58-3, parte C). Como sucede con muchas otras biomoléculas oxidadas, el tripéptido glutatión puede reaccionar de manera directa con cisteína-disulfuros, ácidos sulfénicos cisteína, y sulfóxido de metionina para regenerar cisteína y metionina, respectivamente. Además, las disulfuro reductasas y las metionina sulfóxido reductasas proporcionan un mecanismo de reducción catalizada por enzima en el que se usa NADPH como donador de electrones. Por desgracia, el potencial de reducción del glutatión y del NADPH sólo es suficiente para reducir los estados de oxidación más bajos de estos átomos de azufre: los cisteína disulfuros o ácidos sulfénicos y sulfóxido de metionina. El ácido sulfínico cisteína, el ácido sulfónico cisteína y la metionina sulfona son resistentes a la reducción en condiciones fisiológicas.

Los residuos de ácido aspártico poseen las características geométricas precisas necesarias para permitir que el grupo carboxilo de cadena lateral reaccione con el grupo amino dentro del enlace peptídico formado con su grupo carboxilo α. La diamida cíclica resultante puede reabrirse entonces para formar el enlace peptídico original o un residuo isoaspartilo en el cual el carboxilo de cadena lateral ahora forma parte del esqueleto peptídico de la proteína (**figura 58-6**). La metilación del grupo carboxilo α proporciona un grupo saliente, que promueve la reformación de la diamida cíclica, que entonces puede reabrirse para formar el enlace peptídico normal (figura 58-6).

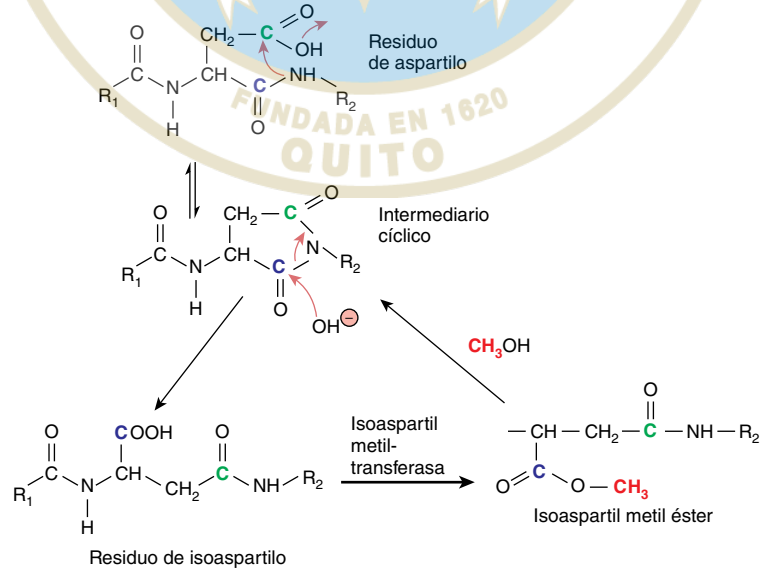


FIGURA 58-6 **La formación de un enlace isoaspartilo en un esqueleto polipeptídico y su reparación por medio de la intervención de la isoaspartil metiltransferasa.** Se muestra la secuencia de reacciones químicas y catalizadas por enzimas que llevan a la formación de un enlace isoaspartilo y restauración de un enlace peptídico normal. Los carbonos que corresponden a los grupos de ácido carboxílico α y de cadena lateral en el ácido aspártico están coloreados de azul y verde, respectivamente. Las flechas rojas denotan las rutas de ataque nucleofílico durante las reacciones de ciclización e hidrólisis. El grupo metilo añadido a la isoaspartil metiltransferasa está coloreado de color rosado.

Las proteínas agregadas son muy resistentes a la degradación o reparación

Las modificaciones de la composición o la conformación de una proteína que hacen que se adhiera a otras moléculas de proteína pueden llevar a la formación de agregados tóxicos, llamados **amiloide**. Esos agregados son el dato característico de varias enfermedades neurodegenerativas, entre ellas la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, las ataxias espinocerebelosas y las encefalopatías espongiformes transmisibles. Los efectos tóxicos de estos agregados insolubles son exacerbados por su persistencia, porque en este estado casi todos por lo general son resistentes a la acción catalítica de las proteasas que en circunstancias normales se encargan de su recambio.

ENVEJECIMIENTO COMO UN PROCESO PREPROGRAMADO

Si bien el desgaste molecular sin duda contribuye al envejecimiento, varias observaciones también sugieren que están implicados los mecanismos deterministas, programados. Por ejemplo, en lugar de decaer de manera gradual, muchas de las manifestaciones físicas del envejecimiento (manchas hepáticas, encanecimiento, manos temblorosas, lagunas de memoria) por lo general se manifiestan en etapas tardías de la adultez y progresan a un ritmo rápido, como si los mecanismos de mantenimiento molecular de los cuales dependen su reparación y reemplazo de forma repentina hubieran recibido una orden de dejar de operar. La menopausia femenina proporciona un claro ejemplo de un cambio fisiológico asociado con la edad que está genéticamente programado y controlado por mecanismos hormonales. En los párrafos que siguen se describen varias teorías actuales respecto a mecanismos deterministas, programados, para controlar el envejecimiento y la muerte.

Teorías metabólicas del envejecimiento: "mientras más brillante es la vela, más rápido se consume"

Una de las muchas variantes de la famosa cita atribuida al filósofo chino de la antigüedad Lao Tse resume las características sobresalientes de las **teorías metabólicas del envejecimiento**. Sus orígenes pueden rastrearse a la observación de que los miembros de mayor tamaño del reino animal tienden a vivir más tiempo que los pequeños (**cuadro 58-4**). Al razonar que la base causal de esta correlación yace en algo conectado con el tamaño, más que el tamaño mismo, muchos científicos enfocaron su atención en el órgano más cercanamente asociado con la vida y la vitalidad: el corazón. En general, la frecuencia cardíaca en reposo de animales pequeños, como los colibríes, de 250 latidos por minuto, tiende a ser más alta que la de animales grandes, como las ballenas, de 10 a 30 latidos por minuto. Los estimados del número acumulativo de veces que late el corazón de cada animal vertebrado en el transcurso de un lapso de vida mostraron una asombrosa convergencia en 1.0×10^9 latidos: mil millones.

La llamada **hipótesis del latido cardíaco** planteó que todo ser viviente es capaz de realizar sólo un número finito de latidos cardíacos o de respiraciones, o de ambos. Una variación más matizada de esta idea básica, hizo referencia de manera variada a la **hipótesis metabólica** o **de la tasa de vida**, que fue propuesta por Raymond Pearl durante el decenio de 1920-1929. Pearl propuso que el lapso de vida de un individuo estaba enlazado de manera recíproca a su índice metabólico basal. En otras palabras, los que "prendieron la vela en ambos extremos", por decirlo así, se consumieron más pronto. Una nueva ronda de cálculos reveló que, mientras que los animales difieren de manera notoria en tamaño, longevidad y frecuencia cardíaca, durante su lapso de vida cada uno gasta una cantidad similar de energía metabólica

CUADRO 58-4 Lapso de vida en contraposición con masa corporal para varios mamíferos

Especie	Masa aproximada (kg)	Esperanza media de vida en la madurez (años)
Ratón de patas blancas	0.02	0.28
Ratón ciervo	0.02	0.43
Topillo rojo (*Myodes glareolus*)	0.025	0.48
Tamias (*Tamias striatus*)	0.1	1.63
Pica americana (*Ochotona princeps*)	0.13	2.33
Ardilla de manto dorado (*Spermophilus lateralis*)	0.155	2.12
Ardilla roja	0.189	2.45
Ardilla de Belding	0.25	1.78
Ardilla de Uinta (*Spermophilus armatus*)	0.35	1.72
Ardilla gris oriental	0.6	2.17
Ardilla del ártico (*Spermophilus parryii*)	0.7	1.71
Conejo de cola de algodón (*Sylvilagus floridanus*)	1.25	1.48
Zorrillo listado	2.25	1.90
Tejón americano	7.15	2.33
Nutria de río norteamericana (*Lontra canadensis*)	7.2	3.79
Lince	7.5	2.48
Castor norteamericano (*Castor canadensis*)	18	1.52
Impala	44	4.80
Borrego cimarrón (*Ovis Canadensis Mexicana*)	55	5.48
Jabalí	85	1.91
Jabalí verrugoso	87	2.82
Tahr del Nilgiri (*Hemitragus hylocrius*)	100	4.71
Ñu azul	165	4.79
Ciervo rojo	175	4.90
Antílope acuático	200	5.87
Cebra de Burchell (*Equus burchelli*)	270	7.95
Búfalo africano	490	4.82
Hipopótamo	2 390	16.40
Elefante africano	4 000	19.10

Fuente: Adaptado de Millar JS, Zammuto: Life histories of mammals: An análisis of life tables. Ecology 1983; 64:631.

total *por unidad de masa corporal*, 7×10^5 J/g. Mientras que es intuitivamente atractivo, no se ha corroborado un enlace mecanístico entre el lapso de vida y el tamaño corporal y el gasto de energía o índice metabólico. Quienes se apegan a la teoría mitocondrial del envejecimiento sugieren que lo que se está "contando" no son latidos cardíacos o energía, sino las ROS que son el subproducto de la respiración. Con el tiempo la generación continua de energía y el consumo relacionado de O_2 lleva a la acumulación de daño de DNA, proteínas y lípidos inducido por ROS hasta que, finalmente, se alcanza un momento crítico. Las células que experimentan déficit calóricos ajustan (reprogramen) sus vías metabólicas para utilizar los recursos disponibles de una manera más eficiente que, a su vez, disminuye la producción de ROS colaterales.

Telómeros: ¿un reloj de cuenta regresiva molecular?

Una segunda corriente de opinión sostiene que el reloj de cuenta regresiva putativo que controla el envejecimiento y el lapso de vida no detecta latidos cardíacos, energía o ROS; más bien, usa **telómeros** para llevar un registro del número de veces que cada célula somática se divide.

Los telómeros están compuestos de cuerdas largas de repeticiones de hexanucleótido ricas en GT que cubren los extremos de cromosomas eucariontes. A diferencia del DNA circular cerrado de genomas bacterianos, el DNA genómico de eucariontes es lineal. Si se dejan sin protección, los extremos expuestos de estos polinucleótidos lineales estarían disponibles para participar en eventos de recombinación genética en potencia carcinogénicos. Una segunda función de los telómeros es proporcionar algo de DNA desechable para adaptarse al desperdicio que ocurre cuando las moléculas de DNA lineal se replican.

Este desperdicio es una consecuencia del hecho de que todas las DNA polimerasas funcionan de manera unidireccional, de 3′ a 5′ (capítulo 35). Si bien en el DNA circular cerrado éste no es un problema, cuando se trata de replicar los extremos 5′ de un DNA bicatenario lineal por medio de síntesis 3′ a 5′ discontinua y ligadura de fragmentos de **Okazaki** pequeños, simplemente no hay suficiente espacio en el extremo para dar cabida al cebador de RNA pequeño, polimerasa, etc. La síntesis del extremo 5′ de cada cadena generalmente se quedará corta 100 bp o más. Cada vez que una célula se divide, su genoma se acortará más (**figura 58-7**). Los telómeros proporcionan una fuente inocua de DNA cuya longitud decreciente tiene pocas consecuencias para la célula. De cualquier modo, una vez que se agota el abasto de DNA de telómero, a grandes rasgos 100 divisiones celulares para el ser humano, toda la mitosis cesa y la célula somática entra en un estado de **senescencia replicativa**. A medida que cada vez más células dentro del organismo entran en senescencia, en forma gradual pierde la capacidad para reemplazar células perdidas o dañadas.

Los organismos son capaces de producir progenie que contiene telómeros de longitud completa gracias a la intervención de la enzima **telomerasa**. La telomerasa es una ribonucleoproteína que se expresa en células madre y en casi todas las células cancerosas, no así en células somáticas. Usando una plantilla de RNA, la telomerasa añade secuencias de repetición de hexanucleótido ricas en GT que varían desde algunos cientos (en levaduras) hasta

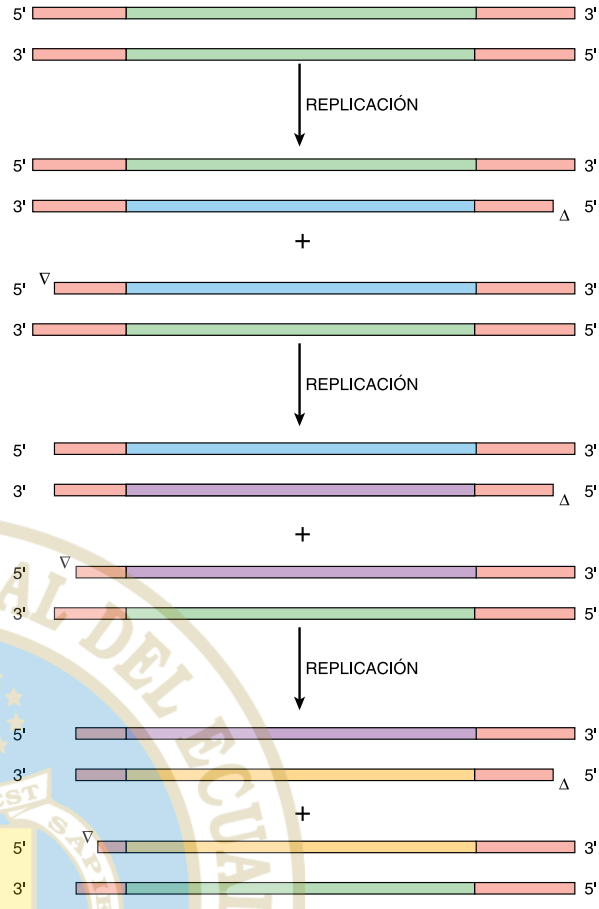


FIGURA 58-7 Los telómeros en los extremos de cromosomas eucariontes se acortan progresivamente con cada ciclo de replicación. Diagrama esquemático del DNA lineal de un cromosoma eucarionte (verde) que contiene telómeros en cada extremo (rojo). Durante la primera replicación, se sintetizan nuevas cadenas de DNA (verde) usando el cromosoma original como plantilla. En aras de la sencillez, los siguientes dos ciclos de replicación (púrpura, amarillo) muestran el destino de sólo lo más bajo de los dos productos de nucleótido desde el ciclo replicativo precedente. Las puntas de flecha blancas denotan el sitio de síntesis de cadena incompleta. El modelo supone que las cadenas únicas que cuelgan en los extremos de cada cromosoma son recortadas en el momento en que se completa cada ciclo de división celular. Note el acortamiento progresivo de las repeticiones de telómero.

varios miles (en humanos) de nucleótidos de longitud a los extremos de moléculas de DNA lineal para restituir sus telómeros a longitud completa. Cuando células somáticas son procesadas mediante ingeniería genética en el laboratorio para que expresen telomerasa, se siguen dividiendo en cultivo mucho tiempo después de que una línea celular testigo no alterada deja de dividirse. La capacidad para evitar la senescencia replicativa usando una enzima que mantiene los telómeros a longitud completa representa la evidencia más convincente de la operación de un reloj de telómero.

Kenyon usó un organismo modelo para descubrir los primeros genes del envejecimiento

Muchos avances en la ciencia biomédica son el producto de investigación en la que se usan diversos organismos denominados mo-

delo como su sujeto de pruebas. La mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, ha proporcionado una rica recopilación de información respecto a los genes que guían la diferenciación celular y el desarrollo de órganos. La levadura para hornear y la rana con garras africana *Xenopus laevis*, han servido como los caballos de tiro para analizar detalladamente los complejos circuitos de transducción de señal que dirigen el ciclo de división celular. Varias líneas celulares de mamífero en cultivo sirven como sustitutos para adipocitos, células renales, tumores, dendritas, etc. Mientras que a primera vista parecería que muchos de estos sistemas modelo tienen pocas características en común con el humano, cada uno posee atributos singulares que los hacen vehículos convenientes para abordar ciertos problemas y explorar sistemas específicos.

Caenorhabditis elegans es un gusano que ha servido como un sujeto importante para el estudio de la biología del desarrollo. *C. elegans* es transparente y crece con rapidez, atributos que facilitaron llevar un registro del programa de desarrollo entero de las 959 células que se encuentran en el adulto maduro hasta el huevo fecundado. A principios del decenio de 1990-1999, Cynthia Kenyon y colaboradores observaron que los gusanos que portan mutaciones del gen que codifica para una molécula tipo receptor de insulina, *daf-2*, vivieron 70% más tiempo que sus homólogos naturales. Igual de importante, los gusanos mutantes se comportaron de una manera que semejó la de un *C. elegans* natural joven durante gran parte de este período, lo cual constituye una distinción importante. Para que reúnan las condiciones necesarias para ser un "gen del envejecimiento", su manipulación debe lograr más que meramente prolongar la edad avanzada al retrasar el punto en el cual cesa la vida. Debe tener repercusiones sobre el programa de cambios asociados con el envejecimiento.

La investigación de otros genes del envejecimiento indica que codifican para un factor de transcripción o un pequeño grupo de factores de transcripción que incluyen PHA-4 o DAF-16, que probablemente controlan la expresión de genes cruciales del envejecimiento, o proteínas señalizadoras como DAF-2 que probablemente activan PHA-4, DAF-16, etc., en respuesta a señales ambientales específicas. Queda mucho por aprender acerca del grado al cual el envejecimiento está controlado por eventos de programación genética, y cómo estos productos de gen y sus productos interactúan con los nutricionales y muchos otros factores que influyen sobre la vitalidad y la longevidad.

¿POR QUÉ LA EVOLUCIÓN SELECCIONARÍA LAPSOS DE VIDA LIMITADOS?

La idea de que los animales habrían adquirido por evolución mecanismos designados específicamente para limitar su lapso de vida parecería, a primera vista, muy ilógica. Si la fuerza impulsora que está detrás de la evolución es la selección de rasgos que aumentan la buena forma física y la supervivencia, ¿esto no debe traducirse en una esperanza de vida siempre creciente? Si bien la maximización del lapso de vida puede representar un rasgo deseable desde el punto de vista del individuo, esto no necesariamente se aplica a una población o especie como un conjunto. Un límite genéticamente programado sobre el lapso de vida podría beneficiar al grupo al eliminar la sangría de los recursos disponibles impuesta por miembros que ya no participan de manera activa en la producción, el desarrollo y el entrenamiento de la descendencia. De hecho, puede racionalizarse que el lapso de vida de tres generaciones actual proporciona tiempo para que a) los recién nacidos se desarrollen hacia adultos jóvenes activos desde el punto de vista reproductivo, b) para que estos adultos jóvenes protejan y nutran a su descendencia, y c) para que sirvan como una fuente de guía y asistencia para adultos jóvenes que encaran los desafíos de la maternidad y paternidad, y de la crianza de hijos.

RESUMEN

- El envejecimiento y la longevidad están controlados mediante la interacción compleja y en su mayor parte críptica entre factores al azar y deterministas que incluyen programación genética, estreses ambientales, estilo de vida, relojes de cuenta regresiva celulares y procesos de reparación molecular.
- Las teorías del desgaste, del envejecimiento, plantean la hipótesis de que los cambios asociados con la vejez y la muerte en sí reflejan la acumulación de daño con el tiempo.
- Los elementos ambientales omnipresentes y esenciales para la vida: agua, oxígeno y luz, poseen una capacidad intrínseca para dañar macromoléculas biológicas.
- Las ROS, como el radical hidroxilo y el superóxido son en particular problemáticas porque son altamente reactivas, a menudo participan en reacciones en cadena que multiplican sus repercusiones, y son generadas continuamente como un subproducto de la compleja red de reacciones redox que están teniendo lugar en la cadena de transporte de electrones.
- La reactividad de sus sistemas en anillo no saturados y la capacidad para absorber luz UV hacen a las bases de nucleótido del DNA en particular vulnerables a UV o daño por sustancias químicas.
- Las mutaciones originadas por errores causados por bases de nucleótidos faltantes o químicamente modificadas pueden ser en particular perjudiciales, porque pueden dar lugar a transformación oncogénica o hacer a una célula vulnerable a daño adicional.
- Las mitocondrias ocupan un lugar fundamental en muchas teorías del envejecimiento y la muerte. Esta prominencia puede atribuirse a varios factores. Las mitocondrias son el sitio de la cadena de transporte de electrones, con mucho la fuente más grande de ROS en la célula.
- La producción eficiente de ATP es esencial para la vitalidad de la célula. Las mitocondrias desempeñan un papel fundamental en la apoptosis, la muerte celular programada. Las mitocondrias carecen de la capacidad para reparar daño de su DNA.
- En células eucariontes, secuencias repetitivas largas llamadas telómeros cubren los extremos de sus cromosomas lineales. Estos telómeros se acortan progresivamente cada vez que una célula somática se divide. Cuando los telómeros de una célula somática se hacen demasiado cortos, la célula entra en senescencia replicativa. Así, se ha emitido la hipótesis de que los telómeros sirven como un reloj de cuenta regresiva para células somáticas.
- El lapso de vida de animales tal vez esté genéticamente programado. La mutación del gen *daf-2* en *Caenorhabditis elegans* dio por resultado gusanos cuyo lapso de vida fue 70% más prolongado que el de gusanos naturales.
- La selección evolutiva de un lapso de vida limitado optimiza la vitalidad de la especie más que la de sus miembros individuales.

REFERENCIAS

Aguzzi A, O′Connor T: Protein aggregation diseases: pathogenicity and therapeutic perspectives. Nat Drug Discov 2010;9:237.

Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, *et al*: Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature 1981;290:457.

Arias E, Curtin LR, Wei R, *et al*: U.S. decennial life tables for 1999-2001, United States life tables. Natl Vital Stat Rep 2008;57:1.

Baraibar MA, Friguet B: Oxidative proteome modifications target specific cellular pathways during oxidative stress, cellular senescence and aging. Exp Gerontol 2013;48:620.

Clarke S: Aging as war between chemical and biochemical processes: protein methylation and the recognition of age-damaged proteins for repair. Ageing Res Rev 2003;2:263.

Eisenberg DTA: An evolutionary overview of human telomere biology: the thrifty telomere hypothesis and notes on potential adaptive paternal effects. Am J Hum Biol 2011;23:149.

Kenyon CJ: The genetics of aging. Nature 2010;464:504.

Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, *et al*: The hallmarks of aging. Cell 2013;153:1194.

Martin-Molvano A, de Cabo R: Mitochondrial metabolic reprogramming induced by calorie restriction. Antioxid Redox Signal 2013;19:310.

Nakamura T, Cho DH, Lipton SA: Redox regulation of protein misfolding, mitochondrial dysfunction, synaptic damage, and cell death in neurodegenerative diseases. ExpNeurol 2012;238:12.

Newgard CB, Sharpless NE: Coming of age: molecular drivers of aging and therapeutic opportunities. J Clin Invest 2013;23:946.

Speakman JR: Body size, energy metabolism and lifespan. J ExpBiol 2005;208:1717.

Ulrich P, Cerami A: Protein glycation, diabetes, and aging. Recent ProgHorm Res 2001;56:1.

Wang CH, Wu SB, Wu YT, Wei YH: Oxidative stress responses elicited by mitochondrial dysfunction: implication in the pathophysiology of aging. Exp Biol Med 2013;238:450.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

Preguntas de examen

Sección XI - Temas especiales (C)

1. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a las vías de la coagulación de la sangre es INCORRECTA?
   A. Los componentes del complejo de Xasa (tenasa) extrínseco son factor VIIa, factor tisular, Ca^{2+} y factor X.
   B. Los componentes del complejo de Xasa (tenasa) intrínseco son el factor IXa, el factor VIIIa, Ca^{2+}, y factor X.
   C. Los componentes del complejo de protrombinasa son el factor Xa, factor Va, Ca^{2+}, y factor II (protrombina).
   D. Los complejos de Xasa intrínseco y extrínseco y el complejo de protrombinasa requieren el procoagulante aniónico fosfatidilserina sobre LDL (lipoproteína de baja densidad) para su montaje.
   E. La fibrina formada por la división del fibrinógeno por la trombina es unida mediante enlaces covalentes por la acción del factor XIIIa que, a su vez, se forma por la acción de la trombina sobre el factor XIII.

2. ¿Sobre cuál de los factores de la coagulación que siguen un paciente que está tomando warfarina para su trastorno trombótico tiene residuos Gla (gamma-carboxiglutamato) disminuidos?
   A. Factor tisular.
   B. Factor XI.
   C. Factor V.
   D. Factor II (protrombina).
   E. Fibrinógeno.

3. Un varón de 65 años de edad sufre un infarto de miocardio, y se le administra activador del plasminógeno tisular en el transcurso de 6 horas luego del inicio de la trombosis, ¿para lograr cuál de los que siguen?
   A. Prevenir activación de la vía extrínseca de la coagulación.
   B. Inhibir la trombina.
   C. Mejorar la degradación de los factores VIIIa y Va.
   D. Mejorar la fibrinólisis.
   E. Inhibir la agregación plaquetaria.

4. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a la activación plaquetaria en la hemostasia y la trombosis es INCORRECTA?
   A. Las plaquetas se adhieren directamente al colágeno subendotelial por medio de GPIa-IIa y GPVI, mientras que la unión de GPIb-IX-V está mediada por medio del factor de Von Willebrand.
   B. El agente agregante tromboxano A_2 se forma a partir del ácido araquidónico liberado desde los fosfolípidos de la membrana de plaquetas por la acción de la fosfolipasa A_2.
   C. El agente agregante ADP es liberado a partir de los gránulos densos de las plaquetas activadas.
   D. El agente agregante trombina activa la fosfolipasa Cβ intracelular, que forma las moléculas efectoras internas 1,2-diacilglicerol y trifosfato de 1,4,5-inositol a partir del fosfolípido de membrana fosfatidilinositol 4,5-bifosfato.
   E. Los receptores de ADP, el receptor de tromboxano A_2, los receptores de trombina PAR-1 y PAR-4, y el receptor de fibrinógeno GPIIb-IIIa, son ejemplos de receptores acoplados a proteína G.

5. Una niña de 15 años de edad acudió a la clínica con equimosis en las extremidades inferiores. De las que siguen, ¿cuál tiene *menos probabilidades* de explicar los signos de sangrado mostrados por esta paciente?
   A. Hemofilia A.
   B. Enfermedad de Von Willebrand.
   C. Un recuento bajo de plaquetas.
   D. Ingesta de aspirina.
   E. Un trastorno plaquetario con falta de gránulos de almacenamiento.

6. Respecto a la carcinogénesis química, seleccione la afirmación FALSA:
   A. Alrededor de 80% de los cánceres de humanos puede deberse a factores ambientales.
   B. En general, los carcinógenos químicos interactúan de manera no covalente con el DNA.
   C. Algunas sustancias químicas son convertidas en carcinógenos por enzimas, por lo general especies de citocromo P450.
   D. Casi todos los carcinógenos finales son electrófilos y atacan grupos nucleofílicos en el DNA.
   E. La valoración de Ames es una prueba útil para investigar sustancias químicas en cuanto a mutagenicidad; sin embargo, se requieren pruebas en animales para mostrar que una sustancia química es carcinógena.

7. Respecto a la carcinogénesis viral, seleccione la afirmación FALSA:
   A. Un 15% de los cánceres de humanos puede ser causado por virus.
   B. Sólo los virus RNA se sabe que son cancerígenos.
   C. Los virus RNA que causan tumores o se asocian con los mismos incluyen el virus de la hepatitis C.
   D. Los retrovirus poseen transcriptasa inversa, que copia RNA a DNA.
   E. Los virus tumorales actúan al desregular el ciclo celular, inhibir la apoptosis, e interferir con los procesos de señalización celular normales.

8. Respecto a los oncogenes y genes supresores tumorales, seleccione la afirmación FALSA:
   A. Ambas copias de un gen supresor tumoral deben estar mutadas para que su producto pierda su actividad.
   B. La mutación de un oncogén se produce en células somáticas y no se hereda.
   C. El producto de un oncogén muestra una ganancia de función que señaliza división celular.
   D. *RB* y *P53* son genes supresores tumorales; *MYC* y *RAS* son oncogenes.
   E. Se cree que la mutación de un gen supresor tumoral o un oncogén es suficiente para causar cáncer.

9. Respecto a los factores de crecimiento, seleccione la afirmación FALSA:
   A. Incluyen un gran número de polipéptidos, la mayor parte de los cuales estimula el crecimiento celular.
   B. Los factores de crecimiento pueden actuar de una manera endocrina, paracrina o autocrina.

C. Ciertos factores de crecimiento, como el TGF-β, pueden actuar de una manera que inhibe el crecimiento.
D. Algunos receptores de factores de crecimiento tienen actividad de tirosina cinasa; en las células cancerosas se producen mutaciones de estos receptores.
E. El PDGF estimula la fosfolipasa A_2, que hidroliza PIP_2 para formar DAG e IP_3, ambos de los cuales son segundos mensajeros.

10. En relación con el ciclo celular, seleccione la afirmación FALSA:
A. Las células que transitan por el ciclo celular pueden residir en cualquiera de las cinco fases del ciclo celular (es decir, G_1, G_0, S, G_2 y M).
B. Las células cancerosas por lo general tienen un tiempo de generación más corto que las células normales y hay menos de ellas en la fase G_0.
C. Se han reportado diversas mutaciones en ciclinas y CDK en células cancerosas.
D. RB es un regulador del ciclo celular, donde se une al factor de transcripción E2F, lo que permite así la progresión de la célula de la fase G_1 a la S.
E. Cuando se produce daño de DNA, aumenta la cantidad de p53, y activa la transcripción de genes que retrasan el tránsito por el ciclo.

11. En lo que se refiere a los cromosomas y la inestabilidad genómica, seleccione la afirmación FALSA:
A. Las células cancerosas pueden tener un fenotipo mutador, lo que significa que tienen mutaciones en los genes que afectan la replicación y reparación de DNA, la segregación cromosómica, la vigilancia de daño del DNA, y la apoptosis.
B. Inestabilidad cromosómica se refiere a ganancia o pérdida de cromosomas causada por anormalidades de la segregación cromosómica durante la mitosis.
C. La inestabilidad de microsatélites comprende la expansión o contracción de microsatélites debido a anormalidades de la reparación por escisión de nucleótidos.
D. La aneuploidía (cuando el número de cromosomas de una célula no es un múltiplo del número haploide) es una característica común de las células tumorales.
E. Las anormalidades de la cohesión de cromosoma, y de unión de cinetocoro-microtúbulo pueden contribuir a la inestabilidad cromosómica y aneuploidía.

12. Seleccione la afirmación FALSA:
A. La actividad de telomerasa suele estar alta en células cancerosas.
B. Varios cánceres tienen una fuerte predisposición o susceptibilidad hereditaria: estos incluyen el síndrome de Li-Fraumeni y el retinoblastoma.
C. Los productos de los genes *BRCA1* y *BRCA2* (de los cuales depende el cáncer de mama hereditario tipos I y II) parecen estar implicados en la reparación del DNA.
D. Las células tumorales por lo general muestran una alta tasa de glucólisis anaeróbica; esto quizá se explique al menos en parte por la presencia en muchas células tumorales de la isozima PK-2, que se asocia con menor producción de ATP y, posiblemente, uso aumentado de metabolitos para construir biomasa.
E. El dicloroacetato, un compuesto que se ha encontrado que muestra cierta actividad anticáncer, inhibe la piruvato carboxilasa y, de este modo, desvía el piruvato en dirección contraria a la glucólisis.

13. Seleccione la afirmación FALSA:
A. la secuenciación de todo el genoma y el exoma está revelando nueva e importante información sobre los números y tipos de mutaciones en células cancerosas.
B. En células cancerosas se están detectando cada vez más anormalidades de los mecanismos epigenéticos, como desmetilación de residuos de citosina, modificación anormal de las histonas, y remodelado de la cromatina aberrante.
C. La persistencia de células madre cancerosas (que a menudo son relativamente inactivas y tienen sistemas de reparación de DNA activos) puede ayudar a explicar algunas de las deficiencias de la quimioterapia.
D. La angiogenina es un inhibidor de la angiogénesis.
E. La inflamación crónica, posiblemente por medio de aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno, predispone a la aparición de ciertos tipos de cáncer.

14. Respecto a la apoptosis, seleccione la afirmación FALSA:
A. La apoptosis puede ser iniciada por la interacción de ciertos ligandos con receptores específicos en la superficie celular.
B. El estrés celular y otros factores activan la vía mitocondrial de la apoptosis; la liberación de citocromo P450 hacia el citoplasma es un evento importante en esta vía.
C. En las células apoptóticas se encuentra un patrón definido de fragmentos de DNA, causado por DNAasa activada por caspasa.
D. La caspasa 3 digiere las proteínas celulares como la lamina, ciertas proteínas del citoesqueleto, y diversas enzimas, lo que lleva a muerte celular.
E. Las células cancerosas han adquirido diversas mutaciones que les permiten evadir la apoptosis, lo que prolonga su existencia.

15. Seleccione la afirmación FALSA:
A. Las proteínas involucradas en la adhesión celular incluyen cadherinas, integrinas y selectinas.
B. Las cantidades disminuidas de E-cadherina sobre la superficie de células cancerosas puede ayudar a explicar la adhesividad disminuida mostrada por las células tumorales.
C. La actividad aumentada de GlcNAc transferasa V en células cancerosas quizá lleve a una red de glicano alterada en la superficie celular, lo que tal vez predispone a su diseminación.
D. Las células cancerosas secretan metaloproteinasas que degradan proteínas en la ECM y facilitan su diseminación.
E. Todas las células tumorales tienen la capacidad genética para colonizar.

16. El número de enzimas dedicadas a la reparación de daño hidrolítico, oxidativo, y fotoquímico de polinucleótidos como el DNA es mucho mayor que el número dedicado a la reparación de proteínas dañadas. En la lista que sigue, identifique la afirmación que es INCONGRUENTE con esta observación:
A. Los polinucleótidos absorben la luz ultravioleta con mayor eficiencia que las proteínas.
B. Las proteínas contienen azufre, un elemento que es susceptible a la oxidación.

C. En general, las proteínas se recambian con mayor frecuencia que el DNA.
D. Las mutaciones en un gen estructural tienen el potencial de alterar las proteínas que codifican, así como el DNA en sí.
E. Si no se corrigen, las mutaciones del genoma se transmitirán a generaciones subsiguientes.

17. ¿Cuál de las que siguen NO es una característica de la hipótesis mitocondrial del envejecimiento?
A. La cadena de transporte de electrones genera especies reactivas de oxígeno como un subproducto.
B. Las mitocondrias carecen de la capacidad para reparar el DNA dañado.
C. Muchos de los complejos de la cadena de transporte de electrones se construyen a partir de una mezcla de subunidades codificadas en el núcleo y codificadas en las mitocondrias.
D. Las mitocondrias dañadas forman agregados resistentes a proteasa.
E. Las mitocondrias dañadas pueden desencadenar apoptosis (muerte celular programada).

18. ¿Cuál de los que siguen NO es un componente del juego de agentes de reparación y prevención de daño de la célula?
A. Superóxido dismutasa.
B. Glutatión.
C. Isoaspartil metiltransferasa.
D. Catalasa.
E. Caspasa 7.

19. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que describe un aspecto de la teoría metabólica del envejecimiento:
A. Las cifras altas de glucosa en el plasma promueven la formación de agregados de proteínas unidos por enlaces covalentes.
B. El daño por ROS se multiplica por la tendencia de los radicales de oxígeno a multiplicarse por medio de reacciones en cadena.
C. Las dietas con restricción calórica promueven la actividad metabólica más baja y más eficiente.
D. El flujo de sangre al músculo cardíaco queda restringido con el tiempo debido a la formación de placas arteriales inducida por colesterol.
E. La actividad física vigorosa se correlaciona con pérdida de células MADRE.

20. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. Los telómeros previenen la recombinación genética al cubrir los extremos de moléculas de DNA lineales.
B. Los genes del envejecimiento se pueden distinguir por sus repercusiones sobre el lapso de vida de un organismo.
C. La vida breve de *Caenorhabditis elegans* hace de él un organismo modelo atractivo para estudiar el envejecimiento.
D. El acortamiento de los telómeros es una consecuencia de la naturaleza discontinua del proceso mediante el cual la "cadena retrasada" se sintetiza durante la replicación del cromosoma.
E. La actividad de telomerasa es alta tanto en células MADRE como en muchas células cancerosas.

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST OMNIUM SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

Banco de respuestas

Sección I. Proteínas: estructura y función

1. Mucho antes de la historia registrada, casi todas las civilizaciones sabían que los azúcares podían convertirse en bebidas alcohólicas. Sin embargo, la capacidad de los científicos antes del siglo xx para descubrir los intermediarios en este proceso fue obstaculizada por la afirmación del gran Louis Pasteur de que la fermentación sólo podía tener lugar en células intactas. El descubrimiento fortuito por los Büchner de que un extracto de levadura libre de células almacenado en una solución de azúcar concentrada produjo etanol y dióxido de carbono permitió a bioquímicos y médicos identificar los intermediarios, las enzimas y los cofactores involucrados en la fermentación y el estrechamente relacionado proceso de la glucólisis.
2. Pronto se descubrió que la fermentación cesó después de un cierto tiempo, pese a la presencia de abundantes azúcares como sustrato. Sólo cuando se añadió ortofosfato inorgánico se reanudó la fermentación; esta observación llevó rápidamente al aislamiento y la caracterización de cada intermediario de la fermentación y la glucólisis. Además del azúcar inicial y de los productos terminales, etanol o piruvato, todos estos intermediarios son ésteres de fosfato. Experimentos similares con el uso de extractos calentados de levadura facilitaron el descubrimiento del ATP, el ADP y el cofactor NAD.
3. Las preparaciones usadas durante todo el siglo xx para identificar y estudiar los metabolitos y las enzimas de procesos bioquímicos comprenden, en orden decreciente de complejidad, hígado intacto perfundido, rebanadas de tejido hepático, homogeneizados crudos, las porciones particulada y soluble de homogeneizados separados mediante centrifugación de alta velocidad, así como preparaciones de enzima tanto brutas como purificadas.
4. La disponibilidad de isótopos radiactivos de carbono, hidrógeno y fósforo (^{14}C, ^{3}H y ^{32}P) simplificó mucho la capacidad para detectar y aislar los intermediarios de procesos metabólicos como la biosíntesis de colesterol, la biosíntesis de nucleótido, y las vías mediante las cuales aminoácidos individuales son degradados.
5. Garrod propuso que la alcaptonuria, el albinismo, la cistinuria y la pentosuria eran consecuencias de metabolismo alterado y llamó a estas afecciones "errores congénitos del metabolismo" (un término que hoy llamaríamos "trastornos genéticos del metabolismo"). Las ideas de Garrod proporcionaron un fundamento para el campo en desarrollo de la genética bioquímica descrito en capítulos subsiguientes de este libro.
6. La regulación de la biosíntesis del colesterol ilustra el enlace entre bioquímica y genética. Receptores de superficie celular internalizan colesterol plasmático circulante, que a continuación regula la biosíntesis de colesterol. Como se comenta en capítulos subsiguientes, los individuos con receptores truncados o por lo demás defectuosos no logran internalizar el colesterol y, en consecuencia, sufren hipercolesterolemia extrema.
7. Los organismos modelo más importantes son levadura (p. ej., *Saccharomyces cerevisiae*), moho de fango (*Dictyostelium discoideum*), la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y el gusano redondo pequeño *Caenorhabditis elegans.* Las ventajas de estos organismos modelo son crecimiento y manipulación fáciles, tiempos de generación breves y la capacidad para generar mutantes que proporcionan información.
8. **D.** Los hidrocarburos son insolubles en agua.
9. **A.** La fenilalanina, la tirosina y el triptófano son los únicos aminoácidos de proteína que absorben luz a 280 nm.
10. **D.** Puesto que a su pK_a un ácido débil no porta carga *neta*, su movilidad sería en esencia de cero en un amortiguador cuyo pH fuera igual a la pK_a.
11. **C.** La distinción importante aquí es entre "carga" y "carga *neta*". A su pI un aminoácido típico contiene un número igual de cargas positivas y negativas y, así, está cargado, pero no tiene carga *neta* general.
12. **C.** Durante la secuenciación de una proteína la técnica de Edman comprende derivatización sucesiva y eliminación de residuos *N* terminales sucesivos.
13. Las moléculas que son no polares tienden a autoasociarse en un ambiente acuoso. Una gota grande minimiza el área de superficie en contacto con el agua. Dado que las moléculas de agua en una interfaz lipídica tienen menos posibilidades de unión a hidrógeno (esto es, tienen grados de libertad reducidos), una gota grande maximiza el número de moléculas de agua libres para optimizar sus interacciones de enlace de hidrógeno, una situación que es termodinámicamente favorecida.
14. La distinción se basa en qué tan completamente una base se disocia en solución. Una base fuerte está en esencia disociada por completo en solución; por ejemplo, el hidróxido de sodio existe en solución como iones sodio y iones hidróxido. En contraste, una base débil, como el hidróxido de bario, se disocia sólo parcialmente en solución. Casi toda permanece como $Ba(OH)_2$. Consideraciones similares distinguen ácidos fuertes y débiles.
15. **E.** Las mezclas complejas de péptidos pueden separarse mediante espectrometría de masa en tándem sin su purificación previa.
16. **E.** Muchas proteínas pasan por procesamiento postraduccional. Un ejemplo temprano es la insulina, que es sintetizada como un polipéptido único, cuya proteólisis subsiguiente lo convierte en dos cadenas polipeptídicas unidas por enlaces disulfuro.
17. El pI es el pH al cual una molécula no porta carga *neta.* En este ejemplo, el pI es un pH a la mitad entre el tercer y cuarto valores de pK_a: pI = (6.3 + 7.7)/2 = 7.0. Para confirmar esta conclusión, imagine cómo la carga neta en la molécula cambiará a medida que la solución es ajustada desde un pH fuertemente ácido hasta uno fuertemente básico. A medida que los grupos carboxilato y después los grupos amonio empiezan a ionizarse, la carga neta cambiará sucesivamente como sigue: +3, +2, +1, 0, −1, −2, −3.
18. Todos los aminoácidos de proteína son *esenciales* porque no puede ocurrir síntesis de proteína a menos que todos estén presentes. Empero, algunos aminoácidos deben estar presentes en la dieta de un organismo dado. Estos aminoácidos "nutricionalmente esenciales" (10 para humanos) son aquellos que un organismo no puede sintetizar a partir de intermediarios anfibólicos. Si bien muchas vitaminas podrían denominarse "esenciales en la dieta", esto difiere entre los organismos. Por ejemplo, la vitamina C sólo es *esencial en la dieta* para seres humanos, el bagre y algunos otros organismos.
19. **D.** Los arreglos de gen, también llamados chips de DNA o arreglos de DNA, contienen múltiples sondas de DNA con secuencias que difieren unidas en ubicaciones conocidas en un soporte de vidrio, silicona o nailon, sólido. La hibridación de sondas de DNA o RNA complementarias en ubicaciones

particulares proporciona información acerca de su composición de ácido nucleico.

20. **D.** Una interacción de enlace de hidrógeno comprende el residuo en cuarto lugar a lo largo de la hélice.
21. **E.** A diferencia de los virus, que contienen DNA o RNA encapsulado dentro de una cubierta de proteína, los priones no contienen ácido nucleico y constan exclusivamente de proteína. Las enfermedades priónicas son transmitidas por la proteína sola sin participación de DNA o RNA.
22. A diferencia del segundo grupo de disociación del ácido fosfórico ($pK_2 = 6.82$), los otros dos grupos de disociación del ácido fosfórico no pueden servir como amortiguadores eficaces a pH fisiológico porque están completamente disociados o predominantemente protonados a ese pH.
23. **A:** grupos carboxilo (pK_1 a pK_3) y grupos amino (pK_4 a pK_7)
    B: menos uno
    C: más 0.5
    D: hacia el cátodo
24. La p*K* de un grupo de disociación de un amortiguador eficaz debe ser de no menos de 0.5 unidades de pH eliminadas del pH deseado. El compuesto amortiguador también debe estar presente en exceso suficiente para amortiguar el flujo de entrada predicho de ácido o base.
25. La carboxilación de un residuo de glutamilo forma γ-carboxiglutamato, un potente quelante de Ca^{++}, esencial para la coagulación de la sangre y la disolución del coágulo. La hidroxilación de prolina y de lisina forma 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina, componentes importantes de varias proteínas estructurales, incluso el colágeno.
26. **a)** El cobre es un grupo prostético esencial para la amina oxidasa, la enzima que se encarga de convertir la lisina en hidroxilisina en el colágeno. La hidroxilación de lisina es esencial para la formación de enlaces covalentes que ayudan a dar al colágeno su fuerza excepcional.
    b) el ácido ascórbico es un cofactor esencial para la enzima prolina hidroxilasa, que convierte la prolina en hidroxiprolina en el colágeno. El grupo hidroxilo de la hidroxiprolina proporciona enlaces de hidrógeno intercadena adicionales que estabilizan la triple hélice del colágeno.
27. Las secuencias señal se usan para dirigir proteínas a ubicaciones subcelulares específicas en la célula, y para la secreción desde la célula.

Sección II. Enzimas, cinética, mecanismo, regulación, y bioinformática

1. La anhidrasa carbónica cataliza la hidratación de dióxido de carbono para formar ácido carbónico. A su vez, una porción de este ácido débil se disocia para producir bicarbonato y un protón. A medida que la concentración de dióxido de carbono disminuye, el ácido carbónico es desintegrado y dióxido de carbono y agua. Para compensar la pérdida de ácido carbónico, el bicarbonato y los protones se recombinan para restablecer el equilibrio, lo cual lleva a una disminución neta del [H+] y un aumento del pH.

2. **D.**	3. **E.**	4. **B.**	5. **A.**
6. **E.**	7. **B.**	8. **C.**	9. **A.**
10. **D.**	11. **E.**	12. **B.**	13. **B.**
14. **C.**	15. **D.**	16. **B.**	17. **B.**
18. **C.**			

Sección III. Bioenergética

1. **A.** Una reacción con una ΔG negativa es exergónica, procede espontáneamente y se libera energía libre.
2. **E.** En una reacción exergónica ΔG es negativa, y en una reacción endergónica, es positiva. Cuando ΔG es de cero, la reacción está en equilibrio.
3. **B.** Cuando los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L, el ΔG^0 es el cambio de energía libre estándar. Para reacción bioquímica, el pH (7.0) también se define, y esto es el $\Delta G^{0'}$.
4. **D.** El ATP contiene dos enlaces de fosfato de alta energía y se necesita para impulsar reacciones endergónicas. No se almacena en el organismo y en presencia de desacopladores su síntesis es bloqueada.
5. **A.** El citocromo c reducido es oxidado por la citocromo c oxidasa (complejo IV de la cadena respiratoria), con la reducción concomitante del oxígeno molecular a dos moléculas de agua.
6. **E.** La citocromo oxidasa no es una deshidrogenasa, aunque todos los otros citocromos se clasifican como tales.
7. **B.** Si bien los citocromos p450 están situados principalmente en el retículo endoplasmático, en algunos tejidos se encuentran en las mitocondrias.
8. **D.** La oxidación de una molécula de NADH por medio de la cadena respiratoria genera 2.5 moléculas de ATP en total. Una es formada por medio del complejo I, una mediante complejo II y 0.5 por medio del complejo IV.
9. **C.** Conforme el $FADH_2$ es oxidado, se forman 1.5 moléculas de ATP en total, una por medio del complejo II y 0.5 mediante el complejo IV.
10. **E.** La oligomicina bloquea la oxidación y la síntesis de ATP porque evita el flujo de electrones de regreso hacia la matriz mitocondrial por medio de la ATP sintasa.
11. **A.** Los desacopladores permiten que los electrones vuelvan a entrar a la matriz mitocondrial sin pasar por la ATP sintasa.
12. **E.** En presencia de un desacoplador, la liberación de energía conforme el electrón fluye hacia la matriz mitocondrial no es captada como ATP y se disipa como calor.
13. **C.** La termogenina es un desacoplador fisiológico que se encuentra en el tejido adiposo pardo. Su función es generar calor corporal.
14. **D.** Por cada revolución de la molécula de ATP sintasa se generan tres moléculas de ATP.
15. **B.** La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna causada por transporte de electrón debe ser negativa en el lado de la matriz, de modo que los protones son forzados a volver a entrar por medio de la ATP sintasa para descargar el gradiente.

Sección IV. Metabolismo de carbohidratos

1. **C.**	2. **D.**	3. **E.**	4. **D.**
5. **C.**	6. **C.**	7. **E.**	8. **B.**
9. **B.**	10. **E.**	11. **C.**	12. **D.**
13. **D.**	14. **D.**	15. **D.**	16. **E.**
17. **E.**	18. **C.**	19. **C.**	20. **C.**
21. **D.**	22. **A.**	23. **B.**	24. **C.**
25. **D.**	26. **E.**	27. **A.**	28. **B.**

Sección V. Metabolismo de lípidos

1. **D.**
2. **D.**
3. **A.** Los gangliósidos se derivan de la glucosilceramida.
4. **C.** A, B, D y E se clasifican como oxidantes preventivos, porque actúan al reducir la tasa de inicio de cadena.
5. **D.**
6. **B.**

7. **D.** Los ácidos grasos de cadena larga son activados mediante acoplamiento a CoA, pero la acil graso CoA no puede cruzar la membrana mitocondrial interna. Después de transferencia del grupo acilo desde CoA hacia carnitina mediante la carnitina palmitoil transferasa (CPT)-I, la acilcarnitina es transportada a través por la carnitina-acilcarnitina translocasa en intercambio por una carnitina. Dentro de la matriz, la CPT-II transfiere el grupo asilo de regreso a CoA y la carnitina es llevada de regreso hacia el espacio intermembrana por la enzima translocasa.
8. **E.** La desintegración de ácido palmítico (C 16) requiere siete ciclos de β-oxidación, cada uno de los cuales produce una molécula de $FADH_2$, y una de NADH, y da por resultado la formación de ocho moléculas de acetil-CoA 2C.
9. **B.** Cuando la acción de la carnitina palmitoil transferasa-I es inhibida por la malonil CoA, los grupos acil graso son incapaces de entrar a la matriz de las mitocondrias donde tiene lugar su desintegración mediante β-oxidación.
10. **C.** Los seres humanos (y casi todos los mamíferos) no poseen enzimas capaces de introducir un doble enlace en ácidos grasos más allá de Δ9.
11. **D.** La inhibición del transportador de ácido tricarboxílico hace que las cifras de citrato en el citosol disminuyan, y favorece la desactivación de la enzima.
12. **A.**
13. **C.**
14. **E.**
15. **E.** El glucagón es liberado cuando la concentración sanguínea de glucosa es baja. En esta situación, hay desintegración de ácidos grasos para obtener energía y la síntesis de ácidos grasos es inhibida.
16. **E.** El glucagón, la ACTH, la adrenalina y la vasopresina promueven la activación de la enzima.
17. **B.**
18. **D.**
19. **A.** Los quilomicrones son lipoproteínas ricas en triacilglicerol sintetizadas en la mucosa intestinal usando grasa proveniente de la dieta y secretadas hacia la linfa.
20. **E.** La VLDL es sintetizada y secretada por el hígado, y el tejido adiposo y el músculo captan los ácidos grasos liberados por la acción de la lipoproteína lipasa.
21. **D.** La lipoproteína de muy baja densidad secretada por el hígado es convertida en lipoproteína de densidad intermedia, después en lipoproteína de baja densidad (LDL) mediante la acción de lipasas y la transferencia de colesterol y proteínas desde lipoproteína de alta densidad. La LDL lleva colesterol a tejidos extrahepáticos y es depurada también por el hígado.
22. **A.** Los quilomicrones son sintetizados en el intestino y secretados hacia la linfa después de una comida grasosa.
23. **E.** Los quilomicrones y sus remanentes son depurados de la circulación rápidamente después de una comida, y entonces aumenta la secreción de lipoproteína de muy baja densidad por el hígado. Los cuerpos cetónicos y los ácidos grasos no esterificados están altos en el estado de ayuno.
24. **C.** Cuando el colesteril éster es transferido desde la HDL hacia otras lipoproteínas por la acción de la CETP, es suministrado finalmente al hígado en VLDL, IDL, o LDL.
25. **D.** Los quilomicrones son metabolizados por la lipoproteína lipasa cuando están unidos a la superficie de células endoteliales. Ese proceso libera ácidos grasos desde el triacilglicerol, que a continuación son captados por los tejidos. Las partículas remanentes de quilomicrón enriquecidas con colesterol, más pequeñas, resultantes, son liberadas hacia la circulación y depuradas por el hígado.
26. **C.** El colesterol es sintetizado en el retículo endoplasmático a partir de acetil CoA. El paso limitante es la formación de mevalonato a partir de 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA por la HMG-CoA reductasa, y el lanosterol es el primer intermediario cíclico.
27. **C.**
28. **C.** Los ácidos biliares secundarios son producidos por la modificación de ácidos biliares primarios en el intestino.
29. **B.** Si el receptor de LDL es defectuoso, la LDL no es depurada de la sangre, lo cual causa hipercolesterolemia grave.
30. **A.** La PCSK9 regula el reciclado de receptores de LDL a la superficie celular después de que ha tenido lugar endocitosis. Por ende, la inhibición de la actividad de PCSK9 aumenta el número de moléculas de receptor de LDL en la superficie celular, lo cual conduce a una tasa aumentada de depuración, y concentración sanguínea de colesterol más baja.

Sección VI. Metabolismo de proteínas y aminoácidos

1. **D.** La fenilalanina hidroxilasa cataliza una reacción funcionalmente irreversible y, así, no puede convertir la tirosina en fenilalanina.
2. **E.** La histamina es un catabolito, no un precursor, de la histidina.
3. **B.** La inserción de selenocisteína en un péptido ocurre durante la traducción, no después de la misma.
4. **C.** La transaminación dependiente de piridoxal es la primera reacción en la degradación de todos los aminoácidos comunes, excepto de la treonina, lisina, prolina e hidroxiprolina.
5. **B.** Glutamina.
6. **C.** El esqueleto de carbono de la alanina es el que más contribuye a la gluconeogénesis hepática.
7. **B.** El ATP y la ubiquitina participan en la degradación de proteínas no asociadas a membrana y proteínas con vida media *breve*.
8. **C.** Debido al fracaso para incorporar ene NH_4^+ hacia urea, los signos clínicos de trastornos metabólicos del ciclo de la urea incluyen *alcalosis*, no acidosis.
9. **E.** La fumarasa y la malato deshidrogenasa, *citosólicas*, convierten la fumarasa en oxaloacetato después de una reacción *citosólica* del ciclo de la urea. La fumarasa y la malato deshidrogenasa *mitocondriales* funcionan en el ciclo del TCA, no en la biosíntesis de urea.
10. **A.** La serina, no la treonina proporciona la porción tioetanol de la coenzima A.
11. **E.** La descarboxilación del *glutamato*, no de la glut*amina* forma GABA.
12. La 5-hidroxilisina y el γ-carboxiglutamato representan ejemplos de modificación postraduccional de residuos de peptidil lisil y peptidil glutamil, respectivamente. En contraste, la selenocisteína es incorporada hacia proteínas de manera cotraduccional, de la misma manera que los otros 20 aminoácidos de proteína comunes. El proceso es complejo, y comprende el tRNA poco común denominado $tRNA^{sec}$.
13. La biosíntesis de los aminoácidos que son esenciales en la dieta para humanos requiere múltiples reacciones. Dado que la dieta de una persona típicamente contiene cantidades suficientes de estos aminoácidos, la pérdida de los genes que pueden codificar para estas enzimas "innecesarias" y la ausencia de necesidad de gastar la energía requerida para copiarlos proporciona una ventaja evolutiva.
14. Puesto que la glutamato deshidrogenasa desempeña múltiples papeles fundamentales en el metabolismo, su falta completa sería incuestionablemente letal.

15. **E.** La albúmina no es una hemoproteína. En casos de anemia hemolítica, la albúmina puede unirse a algo de methem, pero a diferencia de las otras proteínas listadas, la albúmina no es una hemoproteína.
16. **A.** La porfiria intermitente aguda se debe a mutaciones en el gen que codifica para la uroporfirina I sintasa.
17. **A.** La bilirrubina es un tetrapirrol *lineal.*
18. **D.** La ictericia grave, el dolor en la parte alta del abdomen y la pérdida de peso, más los resultados de laboratorio que indican un tipo de ictericia obstructivo son congruentes con cáncer de páncreas.
19. La valoración aprovecha la diferente hidrosolubilidad de la bilirrubina no conjugada y conjugada. Se efectúan dos valoraciones, una en ausencia de un solvente orgánico, típicamente metanol, y una segunda en presencia de este último. Los grupos de ácido glucurónico altamente polares de la bilirrubina conjugada transmiten hidrosolubilidad que asegura que reaccionará con el reactivo colorimétrico incluso en ausencia de cualquier solvente orgánico añadido. Datos provenientes de una valoración efectuada en *ausencia* de metanol añadido, llamada "bilirrubina directa", es el glucurónido de bilirrubina. Una segunda valoración efectuada en *presencia* de metanol añadido mide la bilirrubina *total*, esto es, bilirrubina tanto conjugada como no conjugada. La *diferencia* entre bilirrubina total y bilirrubina directa, reportada como "bilirrubina indirecta", es la bilirrubina *no conjugada.*
20. La biosíntesis de hem a partir de la succinil-CoA y glicina sólo ocurre cuando la disponibilidad de hierro libre señaliza el potencial para síntesis de hem. La regulación se dirige a la primera enzima de la vía, la δ-aminolevulinato sintasa (ALA sintasa) más que a una reacción subsiguiente. Esto conserva energía al evitar gastar una coenzima A tioéster.

Sección VII. Estructura, función y replicación de macromoléculas

1. **D.** Los trifosfatos de purina y pirimidina β,γ-metileno y β,γ-imino no liberan fácilmente el fosfato terminal mediante hidrólisis o por medio de transferencia del grupo fosforilo.
2. **D.**
3. **E.** La seudouridina es excretada sin cambios en la orina del ser humano. Su presencia ahí no es indicativa de enfermedad.
4. **A.** Los trastornos metabólicos se asocian con poca frecuencia con defectos del catabolismo de la pirimidina, que forma productos hidrosolubles.

5. **B.**	6. **D.**	7. **B.**	8. **C.**
9. **C.**	10. **D.**	11. **E.**	12. **B.**
13. **D.**	14. **D.**	15. **E.**	16. **A.**
17. **C.**	18. **B.**	19. **D.**	20. **B.**
21. **C.**	22. **A.**	23. **C.**	24. **A.**
25. **E.**	26. **B.**	27. **A.**	28. **E.**
29. **C.**	30. **A.**	31. **A.**	32. **C.**
33. **D.**	34. **E.**	35. **C.**	36. **B.**
37. **C.**	38. **E.**	39. **D.**	40. **D.**
41. **B.**	42. **A.**	43. **A.**	44. **E.**
45. **C.**	46. **A.**	47. **C.**	48. **D.**
49. **C.**	50. **B.**	51. **E.**	52. **C.**
53. **D.**	54. **A.**	55. **E.**	56. **A.**
57. **E.**	58. **C.**	59. **A.**	60. **D.**
61. **D.**	62. **E.**	63. **A.**	64. **C.**
65. **C.**	66. **E.**	67. **D.**	

Sección VIII. Bioquímica de la comunicación extracelular e intracelular

1. **B.** Los glucolípidos están situados en la cara externa.
2. **A.** Las hélices α son constituyentes importantes de las proteínas de membrana.
3. **E.** La insulina también aumenta la captación de glucosa en el músculo.
4. **A.** Su acción mantiene la concentración intracelular alta de potasio en comparación con sodio.

5. **D.**	6. **B.**	7. **C.**	8. **B.**
9. **D.**	10. **A.**	11. **E.**	12. **B.**
13. **D.**	14. **E.**	15. **B.**	16. **C.**
17. **A.**	18. **C.**	19. **A.**	20. **B.**
21. **D.**	22. **A.**		

Sección IX. Temas especiales (A)

1. **A.**	2. **E.**	3. **C.**	4. **D.**
5. **E.**	6. **D.**	7. **C.**	8. **B.**
9. **D.**	10. **E.**	11. **C.**	12. **B.**
13. **C.**	14. **D.**	15. **B.**	16. **A.**
17. **B.**	18. **C.**	19. **E.**	20. **D.**
21. **E.**	22. **A.**	23. **C.**	24. **C.**
25. **A.**	26. **E.**	27. **A.**	28. **A.**
29. **A.**	30. **C.**	31. **E.**	32. **A.**
33. **B.**	34. **A.**	35. **B.**	36. **C.**
37. **D.**	38. **E.**	39. **E.**	40. **A.**
41. **D.**	42. **C.**	43. **B.**	44. **E.**
45. **C.**	46. **B.**	47. **B.**	48. **B.**
49. **B.**	50. **C.**	51. **D.**	52. **C.**
53. **A.**	54. **A.**	55. **A.**	56. **E.**
57. **A.**			

Sección X. Temas especiales (B)

1. Dentro del cuerpo, la hidrólisis de nitroglicerina libera iones nitrato que pueden ser reducidos por la aldehído deshidrogenasa mitocondrial para generar óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador.
2. El ciclo contráctil del músculo cardíaco es controlado por oscilaciones de la concentración de Ca^{2+} citosólico. Si una deficiencia de actividad de SERCA2a lentifica suficientemente la recaptación de Ca^{2+} por el retículo sarcoplasmático, los miocitos cardíacos serán incapaces de depurar este segundo mensajero de su citoplasma antes del inicio del siguiente ciclo de excitación. La persistencia de concentración basal alta de Ca^{2+} citosólico llevará tanto a reducción de la amplitud del ciclo contráctil como al desacoplamiento progresivo del ciclo de excitación-contracción.
3. Las similitudes incluyen que ambas formas de miosina de cadena ligera cinasa son activadas por Ca^{2+}-calmodulina, y ambas enzimas fosforilan la cadena ligera reguladora (cadena ligera 2) en el grupo cabeza de miosina. La diferencia clave es que la fosforilación de cadenas ligeras de miosina es un paso obligado para el inicio de la contracción en el músculo liso, mientras que este papel es satisfecho por el sistema de troponina del músculo estriado.

4. **A.**	5. **D.**	6. **B.**	7. **E.**
8. **D.**			

9. Como la proteína importante, por masa, en la sangre, la albúmina sirve como el contribuidor primario al mantenimiento de la presión osmótica. Puesto que la albúmina es sintetizada

principalmente en los hepatocitos, el mantenimiento de la presión osmótica de la sangre puede quedar comprometido si la enfermedad o el daño del hígado altera su capacidad para sintetizar albúmina. Si la presión osmótica disminuye lo suficiente, las fuerzas de Starling que normalmente impulsan el flujo neto de agua desde los tejidos hacia la sangre se disiparán, lo cual da pie a la acumulación de líquido en los tejidos.

10. La haptoglobina se une a la hemoglobina extracorpuscular y forma un complejo que es demasiado grande como para pasar por el glomérulo hacia los túbulos renales.
11. La producción de anticuerpos nuevos con propiedades de unión a antígeno singulares depende de la recombinación y mutación del DNA que codifica para las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina. La citidina desaminasa introduce mutaciones genéticas al catalizar la hidrólisis de bases de citosina presentes en el DNA a uracilo.
12. **B.** 13. **C.** 14. **C.** 15. **B.**
16. **E.** 17. **E.**
18. Los eritrocitos con deficiencia de glucosa-6-fosfato son hechos en extremo vulnerables a la destrucción por especies reactivas de oxígeno originadas por una falta de glutatión reducido, un agente importante en la protección contra estrés oxidativo. Ésa es una consecuencia de su dependencia de esta enzima para generar un abasto suficiente de NADPH usado por la glutatión reductasa.
19. **E.** 20. **C.** 21. **D.** 22. **A.**
23. **C.** 24. **D.** 25. **B.** 26. **A.**
27. **E.** Las importinas están involucradas en la importación de proteínas hacia el núcleo.
28. **B.** Se sabe que algunas proteínas de mamífero son translocadas de manera postraduccional.
29. **C.** La ubiquitina marca proteínas para degradación por proteasomas.
30. **E.** La furina convierte la proalbúmina en albúmina.
31. **C.** El NSF es una ATPasa.
32. **D.** Los enlaces covalentes son una característica importante de la estructura del colágeno.
33. **C.** Las deleciones del gen que codifica para la elastina se han identificado como la causa de muchos casos de síndrome de Williams–Beuren.
34. **B.** Los subtipos cifoescoliosis y dermatosparaxis del síndrome de Ehlers-Danlos son causados por defectos en genes que no codifican para colágeno.
35. **B.** El ácido hialurónico (hialuronano) no está sulfatado.
36. **C.** El síndrome de Hurler es causado por una deficiencia de α-L-iduronidasa.
37. **D.** La acondroplasia es causada por mutaciones en el gen FGFR3.

Sección XI. Temas especiales (C)

1. **D.**
2. **D.** De las proteínas listadas, sólo el factor II es un factor de la coagulación dependiente de vitamina K.
3. **D.**
4. **E.** GPIIb-IIIa (integrina αIIbβ3) no es un receptor acoplado a proteína G.
5. **A.** La hemofilia A, al ser una enfermedad enlazada al cromosoma X, es muy poco probable que ocurra en una mujer.
6. **B.** Casi todos los carcinógenos químicos interactúan de manera covalente con DNA.
7. **B.** También se sabe que ciertos virus DNA son carcinogénicos.
8. **E.** Se cree que para que haya carcinogénesis se requieren mutaciones en aproximadamente 5 a 6 de estos dos tipos de genes promotores o supresores de cáncer.
9. **E.** El PDGF estimula la fosfolipasa C, no la fosfolipasa A.
10. **D.** La unión de RB a E2F bloquea la progresión de la célula desde la fase G_1 hacia la fase S.
11. **C.** La inestabilidad microsatelital es causada por anormalidades de la reparación de errores de emparejamiento.
12. **E.** El dicloroacetato inhibe la piruvato deshidrogenasa cinasa.
13. **D.** La angiogenina es un inhibidor de la angiogénesis.
14. **B.** El citocromo C es liberado a partir de mitocondrias.
15. **E.** Sólo alrededor de 1 en 10 000 cánceres puede tener la capacidad de colonizar.
16. **B.** 17. **D.** 18. **D.** 19. **C.**
20. **B.**


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
POTENTIOR EST
OMNIUM
SAPIENTIA
FUNDADA EN 1620
QUITO

Índice

Nota: Los números de página en **negritas** indican cuadro, los números de página en *cursivas* indican figura.

A

Abciximab, 721
Abetalipoproteinemia, 256
Abultamientos, 374
ACAT (acil-CoA:colesterol aciltransferasa), 271
Acción hormonal, 518
Aceite-agua, interfases de, 220
Aceites, 212
Aceptores
  de electrones, 119, 122
  de protón, 10, 63
Aceruloplasminemia, 675
Acetal, 155
Acetil-CoA, 140, 141, 172, 232, 260, 586
  como principal bloque de construcción de ácidos grasos, 234
  liberación de, 224
  más una molécula de propionil-CoA, 225
Acetil-CoA carboxilasa, 233
  como enzima adaptativa, 238
  en la regulación de la lipogénesis, 237
Acetilación, 92, 586
  de proteína, 94
Acetiladores lentos o rápidos, 587
Acetilcolina, liberación de, 623
N-acetilglutamato, 293
N-acetilglutamato sintasa (NAGS), 295
Acetiltransferasas, 586
Acetoacetato, 226
Acetona, 226
Acidez, 6
Ácido(s), 11
  acetilsalicílico, 239, 720
  araquidónico, 238, 239
  ascórbico, 196, 561, 628
  ascórbico, deficiencia de, 631
  aspártico, equilibrios protónicos del, *21*
  γ-carboxiglutámico, 18
  cólico, 273
  conjugado, 11
  débiles, 10
  débiles, comportamiento de, 12
  débiles de gran importancia fisiológica, 11
  débiles, sales que amortiguan cambios, 12
  débiles, soluciones de, 12
  débiles, valores de pK_a que expresan las potencias de, 20
  desoxicólico, 274
  desoxirribonucleico (DNA), 359
  dipróticos, **13**
  eicosapentaenoico (EPA), 214
  fólico, complementos de, 560
  fólico, enriquecimiento de alimentos con, 560
  folínico, 559
  fosfatídico, 215, 479
  fuertes, 10
  grasos, 3, 479
  hialurónico, 159, 634, 637
  láctico, ciclo del, 190
  linoleato, 239
  linoleico, 238, 239
  α-linolenato, 239
  α-linolénico (ALA), 214, 238, 239
  litocólico, 274
  micofenólico, 348
  monocarboxílicos, 133
  monopróticos, **13**
  nicotínico, 275, 556
  nucleico, estructura y función del, 359
  orótico, 261
  pantoténico, 62, 164, 233, 561
  quenodesoxicólico, 273
  retinoico, 547
  ribonucleico (RNA), 360
  siálico, 159, 203, 218, 250
  su fuerza depende de la estructura molecular, 13
  tripróticos, **13**
  valproico, 735
Ácido(s) biliares, 218, 273
  primarios, 273
  secundarios, 274
  síntesis de, 274
Ácido(s) cítrico, ciclo de, 116, 140
Ácido(s) cítrico, ciclo del, 161, 185
  en la síntesis de ácidos grasos, 165
  en las mitocondrias, 144
  equivalentes reductores y CO_2, 162
  glucólisis hacia el, 172
  por cada vuelta se forman 10 ATP, 164
  proporciona sustrato para la cadena respiratoria, 161
  que desempeña función crucial en el metabolismo, 164
  regulación del, 166
  vitaminas que desempeñan funciones clave en el, 164
Ácido(s) grasos, 140, 662
  biosíntesis de, 232
  como ácidos carboxílicos alifáticos, 212
  con base en hidrocarburos correspondientes, 212
  de cadena larga, 133, 224
  de cadena larga, biosíntesis de, *235*
  de cadena muy larga, peroxisomas oxidan los, 226
  elongación de cadenas de, 236
  elongasa, 236
  en el hígado, índice alto de oxidación de, 226
  familias ω9, ω6 y ω3, 212
  formas de almacenamiento de, 215
  grado de insaturación, 213
  insaturados de importancia fisiológica y nutricional, **214**
  insaturados naturales con dobles enlaces *cis*, 213
  insaturados que contienen uno o más dobles enlaces, 213
  libres (FFA), 212, 223, 663
  longitud de la cadena, 213
  monoinsaturados, 213, 238
  β-oxidación de, 224
  oxidasa, 225
  propiedades físicas y fisiológicas, 213
  que se activan antes de ser catabolizados, 224
  sintasa como enzima adaptativa, complejo de, 238
  sintasa, complejo de, 233
  síntesis de, 164, 233
  síntesis *de novo* de, 232
  trans, 213
  trans implicados en diversos trastornos, 241
  ω3 como antiinflamatorios que generan beneficios para la salud, 214
  ω3 de cadena larga, 212
Ácido(s) grasos esenciales, 232
  deficiencia de, 239
  en el aspecto nuricional, 238
  en la dieta, carencia de, 239
  metabolismo anormal de, 241
  no ejercen todos sus efectos fisiológicos por medio de la síntesis de PG, 240
  síntomas de deficiencia de, 241
Ácido(s) grasos, oxidación de, 223
  alterada, 231
  en las mitocondrias, 223
Ácido(s) grasos poliinsaturados, 213, 238
  C_{20}, 239
  síntesis de, 239
  y monoinsaturados, 274
Ácido(s) grasos saturados, **213**, 480
que no contienen dobles enlaces, 213
Ácido(s) úrico
  purinas hacia, 354
  vía del, 196
Ácido(s) urónico, 157, 634
Ácido(s) urónico, vía del
  alteración producida por algunos medicamentos, 205
  alteración producida por defectos enzimáticos, 205
  producto de la, 200
Acidosis, 739
  láctica, 127, 168, 174, 556
  metabólica, 292
Aciduria
  dicarboxílica, 231
  4-hidroxibutírica, 320
  urocánica, 299
Aciduria β-hidroxibutírica, 355
Aciduria orótica, 356, 357
  precipitación por fármacos, 356
  tipo I, 356
  tipo II, 356
Acil-CoA deshidrogenasa, 121, 225
  de cadena media, 231
Acil-CoA sintetasa, 127, 224, 246, 262
Acilación de triosa fosfatos, 246
Acilcarnitina, 224
1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa, 246
Acilgliceroles, metabolismo de, 245
Acilo, acarreador de grupos, 561

Acilo-enzima, intermediario de, 65
Acondroplasia, 643
Aconitasa, 162
Aconitato hidratasa, 162
Acoplamiento, 114
  de membrana, 621
  molecular, 44
  receptor-efector, 500
Actina, 633, 696
  como proteína del músculo, 649
  en filamentos delgados, 648
  F, 649, 651, 664, 665
  filamentos de, 622, 664
  G, 649, 664
  regulación basada en, 653
α-actinina, 633
Activador alostérico, 188
Activador del plasminógeno hístico (t-PA), 718
Actividad antiplasmina, 719
Actividad catalítica de enzimas, 66
Actividad catalítica, múltiples opciones para regular la, 90
Actividad enzimática, 233, 354
Actividad específica, 80
Actividad óptica, 153
Actomiosina, 650
Acuaporinas, 490
ADAMTS, miembros de la familia, 632
Adaptación a altitud elevada, 57
Adenilato ciclasa, 263
Adenilil ciclasa, 179, 521
Adenilil cinasa, 117, 127, 189
Adenocarcinomas, 729
Adenosina
  3′-fosfato-5′-fosfosulfato (PAPS), 586
  desaminasa, 699
  desaminasa, deficiencia de, 355
  monofosfato de (AMP), 95
  trifosfato de (ATP), 115
Adherencia celular, 250
Adhesión leucocitaria tipo I, deficiencia de, 703
Adhesiones focales, 633
Adipocitos, 263, 491
ADP, 651
ADP-ribosilación, 92, 556
ADPasa, 720
Adrenalina, 179, 662
  producción de, 510
Adrenérgicos, 180
Adrenodoxina reductasa, 585
Adrenoleucodistrofia neonatal, 614
Aductos, 758
Aerobio, 162
Agammaglobulinemia, 687
Agentes agregantes, 720
Agentes potenciales para desarrollo de fármacos terapéuticos, 368
Aglucona, 155
Agrecano, 634, 643
Agregación plaquetaria, 719, 721
  inhibidor de la, 661
Agregado plaquetario, 711
Agua, 480
  como solvente biológico ideal, 6
  dipolos formados por moléculas de, 6
  excelente nucleófilo, 9
  interacción con, 7
  interna del organismo compartimentalizada, 478
  moléculas de, que forman enlaces de hidrógeno, 7
  y pH, 6
AIDS, pacientes desnutridos con, 543
Aisladores, 444
  regiones de control por, 443
Aislante eléctrico, 212, 491
Ajuste de fase, 373
Ajuste inducido, 106
ALA deshidratasa, 324
ALA-sintasa, 324, 326
Alactasia, 599
β-alanil dipéptidos, 318
Alanina, 283, 300, 314
β-alanina, 318
Alargamiento
  complejo de, 398
  de cadena, 635
  factores de (EF), 422
  fase de, 398
Albúmina, 223, 255, 623, 634, 668, 669, 671, 673
  fracciones, 669
Albuminuria, 634
Alcalosis metabólica, 292
Alcaptonuria, 304
Alcohol, 479, 541
  azúcar, 153
  deshidrogenasa, 261
Alcoholismo, 261
  crónico, 261
Aldehído, 152
  deshidrogenasa, 120, 261
Aldolasa, 170
Aldolasa B, 202
Aldosa(s), 153
  -cetosa, isomerismo de, 154
  reductasa, 205
Aldosterona sintasa, 503
Alfiler SNARE, 623
Alimentación, aporte de combustibles metabólicos, 146
Almidón, 156
  animal, 156
  hidrólisis del, 538
Alopurinol, 354, 356
Alta capacidad de procesamiento, 66, 98
Alta energía
  compuestos de, 116
  enlace de, 115
  transferencia de fosfato de, 118
Alteplase, 718
Ambiente intracelular y extracelular, 478
Amilasas que catalizan la hidrólisis del almidón, 538
Amiloide, 764
  sérico A (SAA), 680
Amiloidosis, 680
  familiar, 680
Amilopectina, 156
Amilosa, 156
Amino azúcares, glucosa como precursor de, 203
Amino terminales, 616
α-amino-β-cetoadipato, 324
δ-aminolevulinato, 324
Aminoácido(s), 3, 103, 133, 140, 142, 190
  carga neta, positiva, negativa o cero, 20
  catabolismo de los esqueletos de carbono de, 297
  concentraciones circulantes de, 289
  conversión de, en productos especializados, 313
  de cadena ramificada, 308
  de cadena ramificada, trastornos metabólicos, 309
  de contenido biológicos, análisis del contenido de, 23
  esenciales o indispensables, 141
  específicos, requerimiento de, 544
  extraterrestes en meteoritos, 18
  gluconeogénico, 289
  grupos a-R determinan las propiedades de los, 22
  hidrofílicos e hidrofóbicos, **18**
  KDEL, 618
  la secuencia determina la estructura primaria, 22
  la solubilidad refleja su carácter iónico, 21
  libres, 539
  metabolismo de, 141, 281, 557
  modificaciones postraducción, 16
  modificaciones postraduccionales, 18
  nitrógeno de, 287
  nutricionalmente no esenciales, biosíntesis de, 282
  oxidasas, 291
  péptidos y, 15
  propiedades de los, 16
  propiedades de los grupos funconales de los, 20
  proteína, estereoquímica de los, 18
  que forman acetil-CoA, 304
  que no porta carga neta, 20
  requerimientos de, 543
  secuencia de, 414
  síntesis de, 164
  transaminación en el catabolismo de, 298
  transporte de algunos, 586
  vía central del metabolismo de, 161
Aminoácido(s) esenciales, 544
  desde el punto de vista nutricional, 282
  vías metabólicas largas que forman los, 282
Aminoácido(s) no esenciales, 282, 544
  biosíntesis de, 281
  o dispensables, 141
L-aminoácido oxidasa, 120
20 L-α-aminoácidos, 16
D-aminoácidos, 20
L-α-aminoácidos de proteína, 16
L-α-aminoácidos, 314
  de plantas con repercusiones adversas, 19
  desempeñan funciones metabólicas adicionales, 19
  en potencia tóxicos, **19**
  no proteína, **19**
Aminoacil-tRNA sintetasas, 415
Aminoazúcar, 634
γ-aminobutirato, 320
Aminofosfolípidos, 482
β-aminoisobutirato, 318
δ-aminolevulinato sintasa, 324
Aminopeptidasas, 539
Aminotransferasa, 165, 283
Amobarbital, 127
Amoníaco
  como glutamina, 292
  eliminación de nitrógeno como, 291
  formación y secreción de, 292
  intoxicación por, 291, 292
Amonotélicos, 290
Amortiguación, 12
Amortiguadores, comportamiento de, 12
AMP, 662
AMP cíclico, 656
  integra la regulación de la glucogénesis, 179
  integra la regulación de la glucogenolisis, 179
AMP retroacción por, 350
  que regula su formación a partir de IMP, 351
Ampicilina (Amp), 455
AMPK cinasa (AMPKK), 270

Amplificación, 717
Anabolismo, 114
Analbuminemia, 671
Análisis cinético, 81
Análisis de Ames, 725
Análisis de ascendencia, 462
Análisis epidemiológicos, 101
Análisis inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), 67
Analito(s), 590
  concentraciones de, 589
Andamio, 632
Andrógeno, síntesis de, 505
Androstenediona, 505, 663
Anemia, 58, 689
Anemia de Diamond-Blackfan, 692
Anemia de inflamación (AI), 677
Anemia hemolítica, 168, 174, 196, 204, 332, 334, 673, 693, 696
  factores específicos para membrana, 694
  factores extrínsecos, 694
  factores intrínsecos, 694
  por anticuerpos calientes o fríos, 694
Anemia megaloblástica, 560
Anemia perniciosa, 559
Anemia por deficiencia de hierro, 678
Anestésicos alternativos, 655
Aneuploidía, 731
Anfolitos, 29
Angiogénesis, 736
Angiotensina II, 513
Anhidrasa carbónica, 691
Anhidrasa carbónica II, 642
Anillos pirrol, 323
Animal transgénico, 440
Animales transgénicos, 464
Aniones dicarboxilato y tricarboxilato, 133
Anómeros α y β, 154
Anotación, 102
Anquirina, 696
Anteroacción, regulación por, 91
Antibacterianos, 559
Antibióticos, 156, 426
Anticoagulante, 637
  cumarina, 717
Anticuerpos, 581, 668
Anticuerpos, diversidad de, 684
Anticuerpos monoclonales, 684, 740
Anticuerpos monoclonales (mAb), 736
Antígeno(s), 481
  ABO, 697
  carcinoembrionario (CEA), 740
  específico para próstata (PSA), 740
Antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), 232
Antimicina A, 132
Antioxidantes, 220, 553
  Paradox-antioxidantes, 567
Antipalúdicos, 559
Antiplaquetarios, 720
Antiportador, 572
  de ornitina-citrulina, 299
Antiporte, 487
α_1-antiproteinasa, 680
α_1-antiproteinasa, inhibidor de la, 706
α_1-antiproteinasa, 679
Antiproteinasas, 706
α_1-antitripsina, 717
Antitrombina, 668, 717
  deficiencias hereditarias de, 717
  plasmática, 637
Aparato de Golgi, 608, 635
  luz del, 615
Apo A-II, 257
Apo B-100, E, 258
Apo C-II, 257
Apo C-III, 257
Apo E, 258
Apolipoproteínas, 254
  distribución de, 255
Apomioglobina, 53
Apoproteína, 254
  cambios de conformación en la, 55
Apoptosis, 216, 248, 249, 392, 704, 707, 723, 733, 758, 760
  o senescencia, 390
Apoptosoma, 734
Aracnodactilia contractural congénita, 632
Árbol biliar, obstrucción del, 333
Arginasa, 294, 295
Arginina, 299, 314, 661
  fosfato, 117
  libera urea y vuelve a formar ornitina, 294
Argininosuccinato, 293
  forma arginina y fumarato, 294
  liasa, 294, 295
  sintetasa, 294, 295
Aromatasa, inhibidores de la, 741
Arritmias, 659
Artritis, 640
Artritis gotosa, 354
Artritis reumatoide, 215, 580, 627
Artrocalasia, 630
Asas o dominios, 373
Ascorbato, 200
Asialoglucoproteína, 493
  de mamíferos, receptor de, 572
  receptor de, 616
Asimetría de interior-exterior, 482
Asimetrías transversales, 624
Asma, 213
Asparagina, 292
  forma oxaloacetato, 298
Asparaginasa, 283, 298
  desamidato glutamina, 292
Aspartato, 165, 283
Aspartato forma oxaloacetato, 298
Aspartato transcarbamoilasa (ATCasa), 91
Aspirina, 232, 720
  en dosis bajas, 742
Ataque nucleofílico, 385
Ataxia telangiectasia mutada (ATM), 390
Ateroesclerosis, 267
Aterogénesis, 578
Aterosclerosis, 212, 217, 218, 254, 258, 259, 274, 560, 564, 720
  daño por radicales y, 565
Átomos de carbono, 267
Átomos de carbono anomérico, 154
Átomos de carbono, número impar de, 225
Átomos de oxígeno molecular hacia el sustrato, 123
Atorvastatina, 275
ATP, 651
  acoplamiento de reacciones termodinámicas, 117
  aporte constante de, 131
  decremento de, 654
  degradación dependiente de, 288
  degradación independiente de, 288
  forma AMP, 117
  formación de, en la glucólisis, 172
  función del, 113
  hidrólisis de, 610
  hidrólisis del, 115
  motor rotatorio para formar, 130
  sintasa, 127, 130
  síntesis de, 130
ATP-citrato liasa, 165, 234
ATP/ADP, ciclo de, 116
ATPasa, actividad de, 608
ATPasa tipo P de unión a cobre, 676
Atractilósido, 132
Atrofia girada de la coroides y la retina, 299
Aumentadores, 401
Autoanticuerpos, 684
Autoantígenos, 640
Autoinmunidad, 684
Automontaje, 629
Autooxidación, 219
Autorrenovación, 689
Axones, 665
Ayuno, estado de, 148
  aporte de combustibles metabólicos, 146
5-azadeoxicitidina, 735
Azaserina, 348
Azúcar, donantes de, 571
Azúcar inmunodominante, 698
Azúcares
  amino, 156, 157
  de la vida, código de, 570
  desoxi carecen de un átomo de oxígeno, 156
  diversas formas de isomerismo, 153
  nucleótido, 635
  que forman glucósidos con otros compuestos, 155

B

Bacterias intestinales, 332
Bacterias, síntesis de proteína en, 426
Bacteriófago lambda λ, cambio genético del, 433
Balsas lipídicas, 216, 484, 623, 624
Bamboleo, 416
Banda de Soret, 327
Bandas A e I, 648
Barbitúricos, 132
Barrera física protectora, 574
Barreras termodinámicas, 185
Base conjugada, 11
Base de datos, 99
  adicionales, 102
  de bioinformática, 99
  retos de la construcción de, 99
Base de Schiff, 578
Base general, 63
Bases bioquímicas, enfermedades y, 3
Bases débiles, 10
Bases fuertes, 10
Basófilos, 700, 706
Beriberi, 555
Biblioteca, 99
  colección de clonas recombinantes, 455
  genómica, 455
  virtual, investigación de, 105
Bicapas, 480
Bicapas lipídicas
  automontaje de, 480
  bimoleculares, 480
Bilirrubina, 330
  captación por células del parénquima hepático, 331
  catabolismo del hem que produce, 330
  conjugación con glucuronato, 331
  conjugada urobilinógeno, 332

directa, 332
en el suero, medición de la, 332
indirecta, 332
metabolismo adicional, 331
no conjugada, 332
no conjugada en la sangre, aparición de, 332
no polar, 331
polar, 331
secreción hacia la bilis, 331
sérica, 598
total, 332
transportada al hígado unida a albúmina sérica, 331
trastornos del metabolismo de la, 332
UDP-glucuronosil transferasa, 333
urinaria, 333
δ-bilirrubina, 333
Bilirrubinemia conjugada, 333
Bilis, 259
Biliverdina reductasa, 330
Bioenergética, 113
Bioética, 3
Biofísica, 3
Bioinformática, 97, 99, 467
e identificación de funciones, 34
repercusiones de la, 101
y recursos genómicos, 101
Bioingeniería, 3
Biología computacional, 97, 102
Biología de células madre, 3
Biología de sistemas, 3, 467
Biología molecular, 30
Biología sintética, 3
Biomarcadores, 68
tumorales, 739, 740
Biomoléculas
anfipáticas, 8
estructura de, 7
fuerzas múltiples estabilizan, 8
y grupos polares, 8
Bioquímica clínica, 589
control de calidad, 591
evaluación de la validez clínica de una prueba, 592
muestras para análisis, 593
pruebas de función de órgano, 596
rango de referencia, 590
Bioquímica del envejecimiento, 755
Bioquímica y medicina, 1
Bioquímica y medicina, avances mutuos, 2
Biotecnología, 3
Biotina, 233
coenzima de enzimas carboxilasa, 561
deficiencia de, en la dieta, 560
Bisfosfoglicerato mutasa, 172
2,3-bisfosfoglicerato
que estabiliza la estructura T de la hemoglobina, 57
sintasa/2-fosfatasa, 57
2,3-bisfosfoglicerato fosfatasa, 172
Blast, 103
Blastp, 103
Blastx, 103
Bolsa de Fabricio, 706
Bomba(s), 481, 486, 491
de protones, 127, 130
Bombardeo atómico rápido (FAB), 31
Borradoras de código, 437
Bradicinina, 713
Brazo aceptor, 366
Brazos D, TΨC y extra, 366
Brefeldina inhibe la formación de vesículas COPI, 623
3-bromopiruvato, 739
Burbujas de replicación, formación de, 386

C

Ca^{2+}, 180
ATPasa, 654, 657
canal de liberación de, 653, 654
canales de, 656
concentración citosólica alta de, 654
concentraciones intracelulares de, 653
en la regulación de la contracción del músculo liso, 659
en la regulación de la contracción muscular, 653
extracelular, 656
lento, 656
liberación de, inducida por Ca^{2+} (CICR), 657
rápidos, 656
regulados, 656
$Ca^{2+}-Na^{+}$, intercambiador de, 657
Cadena adelantada (hacia adelante), 383
Cadena antiparalela, 360
Cadena codificadora, 395
Cadena de *N*-glucano, 615
Cadena híbrida, 576
Cadena insaturada, 212
Cadena lateral, 323
Cadena ligera (L), 650, 659
Cadena no codificadora, 360
Cadena pesada (H), 650
Cadena plantilla, 360
Cadena respiratoria, 120, 126, 127
complejos de la, 127
componentes contenidos en cuatro complejos, 127
energía captada durante el catabolismo, 131
que actúa como bomba de protones, 127
que oxida equivalentes reductores, 127
venenos que inhiben la, 132
Cadena retrasada (retrógrada), 383
Cadena saturada, 212
Cadena única, 368
E-cadherina, 736
Caenorhabditis elegans, 3
Cafeína, 263
Calbindina, 541
Calcinosis, 553
Calcio
absorción que depende de la vitamina D, 541
como mediador de la acción hormonal, 525
metabolismo de, 524
Calcitriol, 552
Calcitriol ($1,25(OH)_2-D_3$) a partir de derivado de colesterol, 507
Cálculo, 333
Cálculos
biliares, 267, 537
Caldesmona, 660
Calmodulina, 180, 524, 653
Calmodulina-$4Ca^{2+}$, 659
Calnexina, 576, 618
Calor, 132
Calreticulina, 576, 618
Calsecuestrina, 653
Calsecuestrina-I, 655
Cambios conformacionales, 651
Caminata cromosómica, 463
cAMP, 520, 660, 720
activa la glucógeno fosforilasa, 180
proteína cinasa dependiente de, 180, 182
señal intracelular para muchas respuestas, 521
Canal(es), 481
Canal(es) activados por ligando, 489
Canal(es) activados por voltaje, 489
Canal(es) con compuerta mecánica, 489
Canal(es) conductor de proteína, 615
Canal(es) conexón completo, 494
Canal(es) de agua, 490
Canal(es) de ion, 487, 657
activado por voltaje, 489
Canal(es) de K^{+}, 489
Canal(es) sensibles a voltaje, 488
Canal(es) transportadores, 480
Canalización, 162
Canalopatías, 657
Cáncer, 215, 564
aspectos inmunológicos del, 741
avanzado, pacientes desnutridos con, 543
caquexia por, 168
colorrectal, 728
daño por radicales y, 565
de la cabeza del páncreas, 333
dependiente de hormona, 557
detección temprana de, 730
fármacos para quimioterapia de, 559
mecanismos epigenéticos y, 735
perspectiva general, 722
problemas fundamentales en el, 722
relación con inflamación y obesidad, 742
Cancer Genome Atlas, 102
Capa molecular externa, 482
Capa superficial única, 254
Capacidad total de unión a hierro (TIBC), 674
Caquexia, 148, 149, 543
por cáncer, 168
Carbamoil fosfato, 293
más ornitina forma citrulina, 294
sintetasa I, 293, 294, 295
Carbohidratos, 152, 478, 634
carga de, 176, 663
complejos, 569
de superficie celular, 218
derivados de aldehído o cetona de alcoholes, 152
dietas con muy bajo contenido de, 194
digestión y absorción de, 538
en lipoproteínas, 159
en membranas celulares, 159
metabolismo de, 140
que se encuentran en glucoproteínas, 159
vía central del metabolismo de, 161
y lípido, biosíntesis de, 298
Carbono, monóxido de, 120, 127, 132
Carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos, 215
Carboxilacción de factores II, VII, IX y X, 717
Carboxilo, 22
terminales, 616
Carboxipeptidasas, 539
Carcinogénesis, características fundamentales, 723
Carcinógenos
finales, 725
indirectos, 587
químicos, 583
Cardiolipina, 127, 246
como lípido de las membranas mitocondriales, 217

Cardiopatía coronaria, 274
Carga de soda (bicarbonato de sodio), 663
Carioferinas, 612
Carnitina
  deficiencia de, 223, 231
  derivados de la, 224
  palmitoiltransferasa, 223
  palmitoiltransferasa-I, 224, 229
  palmitoiltransferasa-II, 224
Carnitina-acilcarnitina translocasa, 224
Carnosinuria, 319
Cartílago, 637
  hialino, 643
Caspasa-3, 734
Caspasa-8, 734
Caspasas, 733
Catabolismo, 114, 131
  de nitrógeno en humanos, 292
  de proteínas, 287
  de purina, 354
Catalasa, 122, 693
  peróxido de hidrógeno como aceptor de electrón, 122
Catálisis, 61
  acidobásica, 63, 64
  covalente, 63, 64, 77
  enzimas, 63
  enzimática, cinética de la, 77
  específica para ácido o base, 63
  mediante quimotripsina, *65*
  ocurre en el sitio activo, 62
  por ácido general, 63
  por proximidad, 63
  por tensión, 63
Catarata
  de origen diabético, 205
  diabética, 205
Catecolaminas, 520
  a partir de tirosina, 509
Cationes, 134
Caveolas, 484
Caveolina-1, 484
CD59, 580
CDNA, bibliotecas o muestras complejas, 456
Cebador de glucógeno, 177
Cefalina, 216
Célula β, 512
Células asesinas naturales, 700, 707
Células blanco, 495, 703
Células blanco, concepto de, 498
Células cancerosas, 577, 580, 722, 731, 734
Células de inclusión, enfermedad de, 581
Células de levadura, 610
Células de mamífero, 397
Células de mieloma, 685
Células embrionarias o adultas, 689
Células endoteliales, 579, 660, 720
Células eucarióticas, 433
Células fuente, 494
Células hepáticas, 584
Células huésped, 425
Células madre, biología de, 3
Células madre hematopoyéticas, 689
Células madre pluripotenciales inducidas (iPSC), 464
Células, moneda de energía de, 116
Células multipotentes, 689
Células neuronales, 491
Células plasmáticas, 707
Células pluripotentes, 689
Células progenitoras linfoides, 701
Células progenitoras mieloides, 701
Células somáticas, 762
Células T auxiliares, 707
Células T citotóxicas, 700, 707
Células totipotentes, 689
Células transformadas, 634
Células tumorales, 640
Células unipotentes, 689
Células virtuales, 107
Células virtuales, biología de sistemas y, 107
Celulosa, 156
  acetato de, 669
Centro lipídico no polar, 254
Centrómero, 374
Ceramida, 216, 249, 250, 479
Ceras, 212
Cerebrósidos, 250
Ceruloplasmina, 672, 675
  deficiencia de, 675
α-cetoácido descarboxilasa, 309
Cetoacidosis, 149, 223, 231
  producida por cetosis prolongada, 231
2-cetoacil sintasa, 233
3-cetoacil-CoA tiolasa, deficiencia de, 231
Cetogénesis, 143, 223, 226
  HMG-CoA como intermediario, 226
  regulada en tres pasos cruciales, 229
Cetogénicos, 146
α-cetoglutarato, 164, 290, 299
α-cetoglutarato deshidrogenasa, 163
Cetona de alcoholes polihídricos, 152
Cetonemia, 227, 231
Cetonuria, 231
  de cadena ramificada, 309
  de cadena ramificada intermitente, 309
Cetosas, 153
Cetosis, 223, 231
  en ganado vacuno, 261
  en ganado vacuno en lactación, 231
CFTR, 490
cGMP, 520, 660
  como señal intracelular, 524
Chalonas, 242
Chaperonas, 608, 610, 619
  moleculares, 608
Chaperones, 45
Chaperoninas, 45, 609
ChIP-chip, 465
ChIP-Exo, 465
ChIP-Seq, 465
Chips de DNA, 33
Cianuro, 120, 127, 132
Ciclinas, 388, 731
Ciclo celular, 249, 730
  paro del, 390
  retraso del, 390
Ciclo de Cori, 190
Ciclo de Krebs, 161
Ciclo Q, 128, 129
Ciclooxigenasa, vía de la, 239
Cifoescoliosis, 630
Cilios y flagelos, 665
Cimógenos, 92
Cinasa de cadena ligera de miosina, 659
Cinasa dependiente de ciclina (CDK), 731
Cinasa dependiente de fosfoinositida-1 (PDK1), 526
Cinc, 680
Cinesina, 665
Cinética, 73
  conocimiento de la, 85
  de la catálisis enzimática, 77
  de Michaelis-Menten, 84
  de saturación, 81
  enzimática, 85
Cinetócoro, 374
Circulación enterohepática, 274, 539
Cirrosis, 161, 260, 261, 680
Cis activo, 400
Cis comos señal epigenética, 438
Cis, elementos regulatorios de acción, 440
Cisteína, *18*, 284, 300, 314
  proteasa, 61
Cistina, 300
  enfermedad por depósito de, 303
  reductasa, 300
Cistina-lisinuria, 300
Cistinosis, 303
Cistinuria, 300
Cistrón, 430
Citidina
  desaminasa inducida por activación (AID), 684
  difosfato de (CDP), 246
Citocinas, 149, 193, 543, 671, 680, 690, 706
  desoxirribonucleósidos de, 352
  y moléculas proinflamatorias, 579
Citocromo(s)
  a_3, 120
  aa_3, 120
  b_{558}, 704
  c_1, b_1 y b_H, 128
  como deshidrogenasas, 121
  duodenal b (Dcytb), 673
  oxidasa, 120
Citocromo(s) b_5, 124, 585, 618
  reductasa, 692
Citocromo(s) c, 734
  oxidasa (complejo IV), 127
Citocromo(s) P450, 123, 583, 725
  isoformas de, 584
  sistema de, 119
Citoesqueleto
  montaje del, 696
  y múltiples funciones celulares, 664
Citosol, 198, 232
Citrato, 234, 237
  sintasa, 162
Citrulina, 293
  más aspartato forman argininosuccinato, 294
Clatrina, 271, 493, 621
Clofibrato, 275
Clona, 454
Clonación, vectores de, 454
Clonas, 729
Clopidogrel, 721
Cloraminas, 705
Cloranfenicol, 426
Clorofila, 323
Cloruro, transportador de, 496
CO_2
  hemoglobina transporte, 56
  transporte de, 691
CoA y proteína acarreadora de acilo, 561
Coactivadores, 403
Coagulación, 721
  trastornos de la, 698
Cobalamina, 558

Cobalofilina, 558
Cobamina, 62
Cobre, toxicosis por, 676
Cociente respiratorio (RQ), 542
Código genético, 413
  degenerado, no ambiguo, sin superposición, 414
Código triplete, 414
Codón(es), 16, 413, 414
Codón(es) de parada, 423
Codón(es) sin sentido, 414, 417
Coeficiente de activación, 595
Coeficiente de Hill, 81
Coeficiente de temperatura (Q_{10}), 77
Coenzima(s), 2, 61, 62
  A, 62
  como transbordadores de sustrato, 62
  de flavina, 556
  derivadas de vitaminas B, 62
  nicotinamida, 121
  Q (Q), 127
Cofactores, 61
  asociados con enzimas o sustratos, 62
  derivados de vitaminas B, 62
  oxidados, aporte de, 166
Cola de His, 70
Cola poli(A), 409
  en el inicio, función de la, 421
Colágeno, 46, 562, 573, 627
  asociado con fibrillas con triples hélices, 629
  como precursor de mayor tamaño, 47
  como proteína fibrosa, 46
  estructura primaria, secundaria y terciaria del, *47*
  formación de enlaces covalentes de, 578
  modificación postraduccional, 629
  tipo I, 627, 640, 642
  tipo II, 643
  tipo IX, 630
  tipo red, 629
  transmembrana, 629
  trastornos nutricionales y genéticos, 47
  triple hélice singular formada por, 46
Colchicina, 665
Cólera, 491
  primeros datos epidemiológicos del, 100
  toxina del, 218, 250
Colesterilación, 481
Colesterol, 140, 141, 218, 219, 254, 479, 484, 624
  7α-hidroxilasa, 273
  biosintetizado por acetil-CoA, 267
  calcitriol a partir de derivado del, 507
  en los tejidos, equilibrio de, 270
  estilo de vida que afecta las cifras séricas de, 274
  excretado desde el cuerpo en la bilis, 273
  formación de, 269
  sérico, 274
  sérico, reducción de, 275
  síntesis de, 270
  síntesis, transporte y excreción de, 266
  transportado entre tejidos, 271
  transporte inverso de, 259, 267, 272
Colil-CoA, 273
Colina, 216, 261
  fosfolípidos que contienen, 482
Combustible metabólico
  aporte de, 146
  reservas de, 147, 148
  suministro de, 139
Compartimentación, 88
Compartimientos especializados, 477
Complejo abierto, 399
Complejo cerrado, 399
Complejo de a-cetoácido deshidrogenasa, 308
Complejo de ataque de membrana (MAC), 685
Complejo de cis-SNARE, 623
Complejo de glucoproteína GPIIb-IIIa, 720
Complejo de inicio 48S, 419
Complejo de inicio 48S, formación del, 419
Complejo de inicio 80S, 419
Complejo de inicio 80S, formación del, 421
Complejo de ligando-receptor, 519
Complejo de poro nuclear, 611
Complejo de preinicio (PIC), 397
  dos modelos que explican el montaje del, 405
  montaje por pasos del, 405
Complejo de preinicio 43S, 419
  formación del, 419
Complejo de proteína de unión a cubierta, 419
Complejo de reconocimiento de origen (ORC), 382
Complejo de tenasa extrínseco, 712
Complejo de transcripción eucariótico, 403
Complejo de transcripción pol II, formación del, 403
Complejo dicer nucleasa-TRBP, 409
Complejo enzimático ácido graso sintasa, 233
Complejo enzimático aromatasa, 505
Complejo IKK, 528
Complejo principal de histocompatibilidad (MHC), 704
Complejo Sec 62/Sec63, 616
Complejo silenciador inducido por RNA (RISC), 409
Complejo snRNA, 407
Complejo *trans*-SNARE, 623
Complementariedad mutua, 683
Complemento sérico, componentes de, 490
Componente P, 680
  amiloide sérico, 680
Componentes estructurales, 481
Compuesto de Ca^{2+}-factor VIIIa-factor X, 713
Compuestos biológicamente activos, 584
Compuestos inactivos, 584
Compuestos polares, 583
Comunicación célula-célula, 638
Concanavalina A, 159
Condiciones aeróbicas, 171
Condiciones anaeróbicas, 171
Condiciones difíciles, 457
Condrodisplasias, 643
Condroitín sulfato, 159, 634, 637
Condroitín 4-sulfato, 637
Condroitín 6-sulfato, 637
Condronectina, 643
Conexinas, 494
Conexiones comunicantes, 477
Configuración, 36
Configuración *cis*, 483
Conjugados glucurónidos, 200
Conmutadores moleculares, 621
Constante catalítica (k_{cat}), 80
Constante de disociación, 10, 11
Constante de índice (k), 76
  condiciones de seudoprimer orden, 76
  de primer orden, 76
  de segundo orden (k_1), 76
Constante dieléctrica, 7
Consumo de café, 274
Contracción miocárdica, 658
Contracción muscular, 180, 647, 648
Contracción muscular basada en actina, 653
Contracción muscular basada en miosina, 653
Control respiratorio, 114, 131, 166
Convalecencia, 544
Convertibles metabólicos interconvertibles, 145
Coproporfirinógeno III, 326
Coproporfirinógeno oxidasa, 326
Coprostanol, 273
Corrección de pruebas y reparación, 762
Correguladores, 403
  de receptor nuclear, 530
Corrinoides, 558
Corticosteroides antiinflamatorios, 240
Cósmidos, 455
Cotransportadores, 487
Cotransporte, 486
COX como enzima suicida, 240
COX-1 y COX-2, 239
Coxibs, 240
CPT-I, deficiencia de, 231
CPT-II, deficiencia de, 231
Creatina, 318, 663
Creatina cinasa (CK), 127, 135, 662
Creatina fosfato, 117
  transbordador de, 135
Creatinina, 318, 597
  depuración de, 597
Crecimiento celular, 638, 726
Cremallera de leucina, 444, 445
Crioelectrones, microscopia por, 44
Crioprecipitados, 718
Cristalografía con rayos X, 41
Cromátides hermanas, 374
  intercambio de, 380
Cromatina, 371
  activa, 437
  estructura de la, 437
  estructuras de orden superior, 373
  inactiva, 437
  reconstitución de la estructura de, 387
  regiones activas de la, 373
  regiones inactivas de la, 373
Cromatografía
  de afinidad, 28, 70
  de columna, 26
  de exclusión de tamaño, 27
  de interacción hidrofóbica, 27
  de intercambio iónico, 27
  líquida de alta presión, 593
Cromosoma(s)
  artificial bacteriano (BAC), 455
  artificial de levadura (YAC), 455
  en interfase, 373
  genes específicos a distintos, 459
  integridad de, 390
  politeno, 374
  X, enfermedad enlazada al, 717
Cromosómica, 731
Cuerpos cetónicos, 141, 143, 149, 223, 226
  como combustible para tejidos extrahepáticos, 227
Cuerpos de Heinz, 693
Cuerpos P, 425, 447
Cumarina, 717
Curvas de disociación de oxígeno, 53
Cutis laxa, 632
CYP27A1, 273
CYP2A6, 585
CYP2C9, 585
CYP2E1, 585
CYP7A1, 273
  reacción de, 274

D
Dantroleno, 654
Daño genético, causas del, 724
Daño macrovascular, 578
Daño microvascular, 578
Daño oxidativo, 564
Database of Genotype and Phenotype, 102
dbGap, 102
Decitabina, 735
Dedo de cinc, 444
Deficiencias hereditarias, 717
Degradación asociada con el retículo endoplasmático, 618
Degradación lisosómica, vía de la, 251
Dehidroepiandrosterona, 505
Deleción (*knockout*) de gen, 3
Dendritas, 665
Dermatán sulfato, 634, 638
Dermatosparaxis, 630
Desacopladores, 132
Desaminación, 141, 164
Desaturasa, sistema enzimático de, 239
Δ^9 desaturasa, 238
Descarboxilación oxidativa, 163
Descondensación, 705
Deshidrogenasa(s), 61, 120, 173
  acoplamiento a una, 68
  citocromos como, 121
  dependientes de NAD(P), 67
  enlazadas a NAD, 121
  enlazadas a NADP, 121
  enlazadas con riboflavina, 121
  no pueden usar oxígeno como aceptor de hidrógeno, 120
  que dependen de coenzimas nicotinamida, 121
  que dependen de la riboflavina, 121
Desmosinas, 631
Desmosomas, 484
Desmosterol, 269
Desorción láser asistida por matriz, 31
Desoxiadenilato, 359
Desoxicitidilato, 359
Desoxiguanilato, 359
Desoxihemoglobina S, polimerización de la, *58*
Desoxirribonucleasas, 368
Desoxirribonucleósidos, 340
  de uracilo y citocina, 352
  difosfatos, 352
Desoxirribosa, 152, 156
Desoxiuridina monofosfato (dUMP), 559
Destoxificación de fármacos, 123
Detergentes, 480
Deterioro neurológico profundo, 614
Determinante antigénico (epítopo), 681
Dexametasona, prueba de supresión con, 599
Dextrinas, 156
Dextrosa, 154
Diabetes insípida nefrogénica, 490
Diabetes mellitus, 135, 140, 149, 152, 193, 212, 231, 232, 254, 255, 261, 578
  daño tisular en la, 578
  manejo de pacientes con glucoproteínas, 579
Diabetes tipo 2, 185
Diacilglicerol, 216, 702
Diagramas GRASP, 104
Diapédesis, 701, 702
Diarrea, 491, 582
Diazanorleucina, 348
Dicloroacetato, 739
Dicumarol, 553
Dieta(s)
  con alto contenido de grasa, 261
  deficiencia de tiamina en la, 174
  en la reducción de colesterol sérico, 274
Diferenciación y senescencia celulares, 249
2,3-difosfoglicerato, 691
Difusión de intercambio, sistemas de, 133
Difusión facilitada, 485, 486, 487, 691
Difusión lateral, 482
Difusión neta, 486
Difusión pasiva, 485
Difusión simple, 485, 486
Digestión, vías, 140
Digital, 657
Digitálicos, 491
Dihidrofolato
  reducción de, 353
  reductasa, 559
Dihidrolipoil, 173
  deshidrogenasa, 121
  transacetilasa, 172
Dihidropiridina, receptor de (DHPR), 654
Dihidropirimidina deshidrogenasa, 355
Dihidrotestosterona a partir de testosterona, 505
Dimercaprol, 132
Dímeros, 434
Dimetilalil difosfato, 267
Dinámica molecular, 44
Dinamina, 493, 665
Dineína
  axonémica, 665
  citosólica, 665
2,4-dinitrofenol, 132
Dinucleótido, 345
Dioxigenasa, 123
Dipalmitoil lecitina, 216
Dipalmitoil-fosfatidilcolina, 250
Dipeptidasas, 539
Dipolos, 7
  formados por moléculas de agua, 6
Disacaridasas, deficiencias de, 599
Disacáridos, 153
  como enzimas del borde en cepillo, 538
  de importancia fisiológica, **157**
  importantes, 156
Diseño de fármacos auxiliado por computadora, 105
Disfunción hepática inducida por toxina, 333
Dislipoproteinemias, 275
Dislocación, 619
Disociación
  ribosómica, 419
Disolución, 711
Displasia
  acromícrica, 632
  diastrófica, 645
  esquelética, 645
  geleofísica, 632
  tanatofórica, 645
Distrofia muscular
  congénita (CMD), 580, 655
  de Becker, 655
  de Duchenne, 647, 655
  de la cintura escapulohumeral o pélvica, 655
Distrofina, 655
α-distroglucano, 655
Distroglucanos, 634
Diversidad combinatoria, 683
Diversidad de unión, 684
Diyodotirosina (DIT), 510
DNA
  aislamiento y manipulación de, 451
  cadena no plantilla del, 395
  cadena plantilla de, que se transcribe, 395
  celular en las mitocondrias, 378
  chips de, 33
  clonación que amplifica el, 454
  combinaciones de elementos de, 443
  como polinucleótido, 344
  con cuatro desoxinucleótidos, 359
  con información genética, 359
  dañado, reparación de, 389
  de humanos, 377
  de secuencias no repetitivas, 377
  de secuencias únicas, 377
  deleción o inserción de nucleótidos en el, 417
  deleciones, inserciones y reordenamientos de, 461
  desenrrollado de, 382
  desenrrollamiento de, 398
  desnaturalización de, 361
  detectores de daño de, 389
  diagnóstico prenatal, 463
  dominios de unión y transactivación de, 446
  en formas relajada y superenrollada, 362
  fidelidad y frecuencia de la transcripción, 398
  genómico eucarionte, 368
  genómico, secuenciación directa de, 464
  homólogo, 380
  inicio y alargamiento de la síntesis de, 383
  integridad del, 390, 762
  ligasas, 385, 452
  mecanismo de reparación de, 556
  metilasas específicas para sitio, 452
  metiltransferasa (DNMT), 735
  moléculas de, 371
  moléculas quiméricas de, 452
  no homólogo, 380
  nuclear, 389
  organización, replicación y reparación del, 370
  organizado en cromosomas, 374
  plantilla de, 395
  plantilla para replicación y transcripción, 362
  polimerasa, complejo de, 383
  polimerasa dependiente de RNA, 380
  polimerasa dependiente de RNA viral, 364
  proteínas unidas a ciertas secuencias de, 398
  recombinante, 451
  recombinante recurso, 70
  recombinante, tecnología de, 459, 698, 718
    en el análisis molecular, 460
  renaturalización de, 361
  reparación de, 723
  roturas bicatenarias de (DSB), 389
  saltador, 380
  semidiscontinua, síntesis de, 386
  síntesis durante la fase S del ciclo celular, 388
  síntesis y replicación, 381
  surcos en la molécula de, 362
  técnicas manuales y automatizadas, 457
  topoisomerasa, 387
  total, digestión parcial del, 455
  transcripciones primarias del, 376
  transductores y mediadores de reparación del daño, 389
  transfección de, 492
DNA-PK, 390
DNasa activada por caspasa (CAD), 733
Doble hélice, 360
Doble híbrido, interacción de, 465
Doble membrana, 127
Dobles enlaces *cis*, 213

Dobles enlaces conjugados, 327
Dolicol, 219, 269
Dolicol-P-P-oligosacárido, 575
Dolor, 232
Dominio(s), 40
Dominio(s) AF-1, 530
Dominio(s) AF-2, 530
Dominio(s) C terminal (CTD), 403
Dominio(s) de activación (AD), 401
Dominio(s) de dimerización carboxilo terminal, 434
Dominio(s) de repetición carboxilo terminal (CDT), 404
Dominio(s) de unión a DNA (DBD), 401, 530
Dominio(s) de unión a DNA amino terminal, 434
Dominio(s) de unión a ligando (LBD), 530
Dominio(s) de unión de DNA de proteínas de factor, 444
Dominio(s) en bucle, 375
Donación secuencial de azúcares, 574
Donador de electrón, 119
Donador de protón, 63
Dopa descarboxilasa en todos los tejidos, 509
Dopaje con sangre, 663
Dopamina, 509
  b-hidroxilasa (DBH), 510, 561
  en noradrenalina, conversión de, 510
Drosophila melanogaster, 3
dsDNA (DNA bicatenario), 371

E

Ecuación de Henderson-Hasselbalch, 12
Ecuación de Hill, 79, 81
Ecuación de Michaelis-Menten, 79
Ecuación química balanceada, 74
Ecuaciones balanceadas, 74
Edema, 543, 670
Efecto Bohr, 56
Efecto de sentido equivocado, 416
Efecto electrogénico, 491
Efecto hidrofóbico, 480
Efecto hiperglucemiante, 192
Efecto inotrópico positivo, 657
Efecto Warburg, 738
Efector alostérico negativo, 90
Efectoras, 733
Efectores alostéricos, 91
Efectores alostéricos regulan ciertas enzimas, 90
Efectores isostéricos, 91
Efectos inotrópicos, 656
Eficiencia catalítica (k_{cat}/K_m), 80
Eficiencia metabólica, 88
Eicosanoides, 213, 232, 239, 706
  biosíntesis de, 232
Elastina, 627, 631
Electrodos específicos para ion, 594
Electrofílicos, 62
Electrófilos, 9, 725
Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), 28
Electrolitos, 594
Electrones, flavoproteína transferidora de, 121
Electrones, transferencia de, 128
Electrones, transporte mediante la cadena respiratoria, 130
Electrotransferencia, 456
Electrotransferencia *Southern* (DNA/DNA) y *Norther*, 362
Elemento de desenrollado de DNA (DUE), 382
Elemento de replicación de origen (ORE), 381
Elemento de respuesta a glucocorticoide (GRE), 520
Elemento de respuesta a hormona (HRE), 520, 529
Elemento de respuesta a interferón (IRE), 528, 676
Elementos de frontera, 444
Elementos funcionales, 102
Elementos minerales y orgánicos, 643
Elementos potenciadores, 440
Elementos reguladores, 440
Eliptocitosis hereditaria, 696
ELISA (análisis inmunoabsorbente ligado a enzima), 67
Elongasa, sistema enzimático de, 239
Emaciación, desgaste y muerte, 140
Empalme fallido puede traducirse en enfermedad, 408
Empalme y procesamiento alternativos, 449
Empalmosoma, 407
Emulsiones, 220, 221
Enanismo de extremidades cortas, 643
Encefalopatía, 127
Encefalopatía de Wernicke, 555
Encefalopatía tóxica hiperbilirrubinémica, 332
ENCODE, 102
Endocitosis, 477, 492
Endocitosis mediada por receptor, 493, 674
Endoglucosidasas, 571, 638
Endonucleasas, 368, 452
Endonucleasas de restricción, 70, 368
Endopeptidasas, 539
Endosimbiosis, 760
Energía, balance de, 541
Energía captación de, 116
Energía captación y transferencia de, 115
Energía conservación de, 116
Energía de activación, 74, 75
Energía de Gibbs, 74
Energía fosfatos de alta, 115
Energía fosfatos de baja, 115
Energía índice de liberación de, 113
Energía libre, 113
Energía libre, cambios de, 119
Energía libre, cambios de la, 74
Energía libre, valor medio para la, 115
Energía potencial, función de, 105
Energía radiante, 724
Energía requerimientos de, 542
Energía, transducción de, 477
Energía transhidrogenasa enlazada con, 134
Enfermedad autoinmunitaria, 564
Enfermedad autoinmunitaria, daño por radicales y, 565
Enfermedad cardiovascular, 215
Enfermedad cardiovascular, incidencia de, 560
Enfermedad celiaca, 537
Enfermedad clínica por deficiencia, 546
Enfermedad cutánea, 666
Enfermedad de Alzheimer, 46, 135, 215
Enfermedad de arteria coronaria, 564
Enfermedad de células falciformes, 460
Enfermedad de células I, 639
Enfermedad de deficiencia de proteostasis, 625
Enfermedad de Hartnup, 308, 557
Enfermedad de hígado graso no alcohólico, 260
Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, 309
Enfermedad de las vacas locas, 36, 46
Enfermedad de los corderos gemelos, 231, 261
Enfermedad de McArdle, 662
Enfermedad de Menkes, 631
Enfermedad de Refsum, 231
Enfermedad de Refsum infantil, 614
Enfermedad de Von Gierke, 355
Enfermedad de Von Willebrand, 689, 718
Enfermedad de Wilson, 315, 676
Enfermedad del vómito jamaicano, 231
Enfermedad endémica, 100
Enfermedad epidémica, 100
Enfermedad genética, 729
Enfermedad granulosa crónica, 705
Enfermedad hepática, 671
Enfermedad metabólica, 296
Enfermedad no cancerosa, 740
Enfermedad por depósito de cistina, 303
Enfermedad por depósito de glucógeno, 152, 176
Enfermedad por depósito de glucógeno hereditaria, 183
Enfermedad por depósito de glucolípidos, 245
Enfermedad por depósito de lípidos, 251
Enfermedad por prión, 45
Enfermedad por Rh, 694
Enfisema pulmonar, 632
Enfoque isoeléctrico (IEF), 29
Enlace Asn-GLcNAc, 574
Enlace β-*N*-glucosídico, 340
Enlace *N*-glucosamina, 635
Enlace *N*-glucosídico, 573
Enlace *O*-glucosídico, 573, 628, 635
Enlace peptídico con carácter de doble enlace, 23
Enlace peptídico, formación de, 422
Enlace trisacárido, 635
Enlaces anhídrido de ácido, 340
Enlaces covalentes, 628
Enlaces covalentes estabilizan moléculas biológica, 7
Enlaces covalentes intercadena e intracadena, 630
Enlaces covalentes perjudiciales, 761
Enlaces hidrofóbicos, 8
Enlaces insaturados, 483
Enlaces no α-peptídicos, 288
Enlaces no covalentes, 7
Δ^2-enoil-CoA hidratasa, 225
Enolasa, 171
Ensayo de inmunosorbente ligada a enzima (ELISA), 596
Entactina, 634
Entalpía, 114
Entrecruzamiento desigual, 379
Entrez Gene, 102
Entropía, 114
Envejecimiento, 627, 640
Envejecimiento acelerado, 666
Envejecimiento, bioquímica del, 755
Envejecimiento como proceso programado, 764
Envejecimiento de la piel, 632
Envejecimiento primeros genes del, 765
Envejecimiento teoría mitocondrial del, 760
Envejecimiento teorías de desgaste y del, 756
Envejecimiento y mortalidad, 756
Enzima(s), 9, 73, 477, 481
  acetil (acil)-malonil, 233
  activadas por metal, 62
  activadora (E1), 620
  actividad catalítica de, 66
  alostérica modelo, 91
  análisis que ayuda al diagnóstico, 68
  bifuncional, 189
  clasificación por el tipo de reacción, 61
  clave, inducción y represión de, 187
  como catalizadores eficaces y muy específicos, 61
  con compartimentos separados por las membranas, 127
  conducta de, 81
  conjugadora (E2), 620

control de degradación de, 90
control de síntesis de, 89
convertidora de angiotensina (ACE), inhibidores de, 513
de división de cadena lateral citocromo P450, 503
de membranas purificadas, 483
de múltiples subunidades, 397
de restricción, 451, 452
desramificadora, 178
diagnóstico de enfermedades genéticas e infecciosa, 70
disminuyen la barrera de energía de activación, 77
en química clínica, 594
estructura y funciones de, 1
fármacos como inhibidores de, 85
grupos prostéticos en la estructura de una, 62
índices de reacciones catalizadas por, 77
inhibidores irresistibles que envenenan, 83
iniciativa de función de, 104
limitadas por difusión, 80
lisosomales, direccionamiento fallido de, 581
málica, 234
mecanismo e inhibición de, 85
mecanismos de acción, 60
metabólicas, modificación omnipresente de, 94
múltiples mecanismos para facilitar la catálisis, 63
no afectan la K_{EQ}, 77
que catalizan la digestión de proteínas, 539
que contienen hem, 584
ramificadora, 178
reacciones catalizadas por, 84, 145
regulación de actividades, 87
regulación de la cantidad de, 89
reguladoras, 145
suicida, 240
sustratos inducen cambios conformacionales en, 64
usos adicionales de las, 69
valoración de, 68
Enzimología de molécula única, 66
Enzimopatías, 694
Eosinófilos, 700, 704, 705
Epidemiología, 100
Epidermólisis ampollar (bullosa), 631
Epigenética, 92, 438
Epimerasa, 636
Epímeros, 154
Epinefrina, 179, 188, 193, 237, 262
Epísomas, 454
Epitelio de colon normal, 728
Epitelio displásico, 728
Epítopos, 39
Epoxidasa, 268
Epóxido hidrolasa, 588
Equilibrio acidobásico, 292
Equilibrio dinámico, 89
Equilibrio, dirección y estado de, 74
Equivalente metabólico de la tarea (MET), 542
Equivalentes reductores, 198
ER rugoso, 608
ER rugoso, rama del, 608, 614
Ergosterol como precursor de la vitamina D, 219
Eritrocito(s), 172, 689
altamente especializados, 690
enucleados, 690
forma y flexibilidad, 696
glucosa en, 146
lapso de vida de 120 días, 692
maduros desprovistos de orgánulos internos, 690
membrana del, 695
que generan ATP, 691
reemplazo continuo de, 692
Eritromicina, 156, 426
Eritropoyesis, 676, 692
deficiente en hierro, 678
Eritropoyetina (EPO), 690, 692, 699
recombinante, 577
ERp57, 576
Errores congénitos del metabolismo, 2, 638
Esclerosis múltiple, 250
Escorbuto, 47, 281, 285, 631
por deficiencia de vitamina C, 562
Escualeno, 267, 268
Esferocitosis hereditaria, 694, 696
Esfingofosfolípidos, 212
Esfingolípidos, 250
Esfingolípidos formación a partir de ceramida, 249
Esfingolípidos, metabolismo de, 245
Esfingolipidosis, 251
Esfingomielina, 215, 250, 479, 624
Esfingosina, 215
Esfongomielinas en las membranas celulares, 216
Espacio intermembrana, 127
Especies reactivas de oxígeno (ROS), 122, 219, 693, 704
Especificidad, 487, 592
Espectofotometría, 327
Espectrina, 694, 695, 696
Espectrofotofluometría, 593
Espectrofotometría de absorción, 593
Espectrofotometría de absorción atómica, 594
Espectrofotometría de flouorescencia, 593
Espectrometría de masa, 31, 570
Espectrometría de masa en tándem, 296
Espectrometría de masas en tándem, 33
Espectrómetros de masa, 31
Espectroscopia con NMR, 41
Espectroscopia con NMR de alta resolución, 570
Esperanza de vida, 756
Espina bífida, 560
Esplenectomía, 696
Estado 3 de control respiratorio, 132
Estado 4 de control respiratorio, 131
Estado 5 de control respiratorio, 132
Estado de pestillo, 660
Estado de transición, 74
Estado de transición, análogos de, 81
Estado de transición, E...R...L, 75
Estado no esterificado, 223
Estado nutricional lipogénesis regulada por el, 236
Estado pospandrial, 147
Estado R (relajado), 55
Estado T (tenso), 55
Estados de deficiencia múltiple, 546
Esteatohepatitis no alcohólica, 260
Estenosis aórtica supravalvular, 632
Estequiometría, 74
Éster de colesterol, 219, 254
hidrolasa, 270
plasmático, 272
Esterificación, 229
Esteroides, 141, 218, 480
Esteroides, asimetría en la molécula de, 218
Esteroides gonadales, 517
Esteroides, metabolismo de, 123
Esteroides sulfatos, 250
Esteroidogénesis ovárica, 505
Esteroidogénesis suprarrenal, 502
Esteroidogénesis testicular, 505
Esteroisómeros, 218
Esterol 27-hidroxilasa, 273
Esteroles, 479
Estreptocinasa, 718
Estreptomicina, 156
Estrés del ER, 618
Estrés del ER, detectores de, 619
Estrés emocional, 274
Estrés oxidativo, 724
Estrógenos, 274, 643
Estructura primaria, determinación de la genómica, 30
Etanol, 585
Etanol, hígado graso por, 261
Eucariotas, regulación de gen en, 447
Eucromatina, 374
Eventos de señalización, 730
Eventos reguladores individuales, 95
Evolución convergente, 103
Evolución divergente, 103
Examen general de orina, 596
Excitación y respuesta, acoplamiento entre, 477
Exocitosis, 477, 492, 608
liberación de macromoléculas desde las células, 493
Exoglucosidasas, 571, 638
Exoma, secuenciación de, 99, 732
Exones, 99, 376, 406, 414
Exones empalme entre sí de, 407
Exonucleasas, 368
Exopeptidasas, 539
Explosión respiratoria, 543, 704
Exportador mRNP, 612
Exportinas, 612
Expresión constitutiva, 433
Expresión coordinada, 430
Expresión específica para tejidos, 440
Extremos romos, 452
Ezetimiba, 275

F

Factor acelerador de la descompocición, 580
Factor activador de plaquetas, 245, 248
Factor de alargamiento 1A (EF1A), 422
Factor de alargamiento 2 (EF2), 422
Factor de células madre, 690
Factor de crecimiento del endotelio vascular, 736
Factor de crecimiento epidérmico (EGF), 526
Factor de diferenciación de crecimiento 15 (GDF15), 677
Factor de liberación RF3, 423
Factor de Von Willebrand, 718, 720
Factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1), 736, 739
Factor intrínseco, vía del, 713
Factor IXa, 713
Factor liberador RF1, 423
Factor lipotrópico, 261
Factor nuclear κ-B (NFκB), 671
Factor relajante derivado del endotelio (EDRF), 660
Factor Rho, 398
Factor sigma (σ), 397
Factor tisular (TF), 712
Factor V, 714
Factor V de Leiden, 717
Factor Va, 714
Factor VII, 712
Factor VIIa, 712
Factor VIII, 713
Factor VIIIa, 714
Factor X, 712

Factor Xa, 712, 713, 714
Factor XI, XIa, 713
Factor XIIa, 713
Factor XIII en factor XIIIa, 715
Factores basales o generales, 401
Factores de complemento, 685
Factores de crecimiento, 699
Factores de crecimiento de fibroblastos, 645
Factores de dirección, 610
Factores de inicio eucariótico (eIF), 419
Factores de intercambio de nucleótido guanina (GEF), 612
Factores de riesgo modificables, 730
Factores epigenéticos, 97
Factores estimulantes de colonias, 690
Factores inhibidores de crecimiento, 730
Factores relacionados con TBP (TAF), 400
FADH2 ciclo de la b-oxidación, 225
Fagocitos, 706
Fagocitosis, 492, 700, 701, 703
Fagos, 455
Fagosoma, 703
Falta de ejercicio, 274
Familia Alu, 377
Familia correpresora, 533
Familia de coactivadores p160, 532
Farmacogenómica, 3, 102
Fármacos, 480
  antifolato, 348
  como inhibidores de enzimas, 85
  creación de, 85
  descubrimiento de, 66
  diseño de, auxiliado por computadora, 105
  metabolismo de, 85
  metabolizados *in vivo*, 85
  xenobióticos, 583
Farnesil difosfato, 267, 269
Fascículo de cuatro hélices, 623
Fase de inicio, alargamiento y terminación, 419
Fase gap 1 (G_1) y gap 2 (G_2), 388
Fase mitótica (M), 388
Fase no oxidativa genera precursores de la ribosa, 198
Fase no oxidativa reversible, 198
Fase oxidativa genera NADPH, 198
Fase oxidativa irreversible, 198
Fase S, 96
Fase sintética (S), 388
Fatiga, 168
Favismo, 204
Fe-S Rieske, 128
Fe^{3+}, átomos de, 673
Fecundación, inhibir la, 579
Fenilalanina, 304
Fenilcetonuria clásica tipo I (PKU), 304
Feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT), 510
Fenotipo
  mutador, 731
  SADDAN, 645
Fermentación, 1
Ferritina, 425, 541, 673
Ferroportina, 673
Ferroquelatasa, 326
FFA (ácidos grasos libres)
  cifras plasmáticas aumentadas de, 260
  reducción del gasto de, 262
  se metabolizan con rapidez, 255
Fibras aeróbicas, 662
Fibras anaeróbicas, 662
Fibras de contracción lenta (rojas), 663
Fibras de contracción rápidas (blancas), 663
Fibras de cromatina de 30nm, 373
Fibras de estrés, 665
Fibrilina, 627
Fibrilina-1, 632
Fibrillas, 628, 632
  anormales, 642
  de 10nm, 373
  de anclaje, 629
Fibrina, 712
  coágulo de, 712, 718
  depósito de, 712
  especificidad de la plasmina para la, 718
  estabilidad del coágulo de, 721
  medición de productos de degradación de la, 721
  monómero de, 715
Fibrinógeno, 668, 669, 712, 720
  concentración de, 721
  conversión en fibrina, 715
Fibrinólisis, 714, 718
Fibrinopéptido A (FPA), 715
Fibrinopéptido B (FPB), 715
Fibronectina, 627, 630, 633
Fibrosis quística (CF), 496, 537
Fibulinas, 632
Fijación de membrana, 621
Filamentos gruesos, 650
Filamentos intermedios, 665
Filamentos intermedios, distribución de, 666
Filoquinona, 554
Filtración glomerular, 634
Filtro de selectividad, 488, 489
Fitasa, 541
Fitohemaglutininas, 572
Flavina adenina dinucleótido (FAD), 120, 556
Flavina mononucleótido (FMN), 120, 556
Flavoproteína, 120, 127
  transferidora de electrón, 225
  transferidora de electrones, 121
Flip-flop, 482
Flipasas, 482
Fluorescencia, 327
Fluoroacetato, 162
5-fluorouracilo, 354
Fluoruro, 171
Fluvastatina, 275
Fofodiesterasas, 345
Folato
  anemia megaloblástica por deficiencia de, 560
  en la dieta, múltiples formas de, 559
  funcional, deficiencia de, 559
  inhibidores del metabolismo de, 559
Fosfágenos, 117
Fosfatasa alcalina, 642
Fosfatidato, 246
Fosfatidilcolinas en las membranas celulares, 216
Fosfatidiletanolamina, 216
Fosfatidilglicerol, 217
Fosfatidilinositida, 520
  metabolismo de la, 525
Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato, 493, 720
Fosfatidilinositol como precursor, 216
Fosfatidilserina, 216, 246
Fosfato de alta energía, 115, 116, 127
  transferencia de, 118
  transporte desde mitocondria, 135
Fosfato de baja energía, 115
Fosfato de creatina, 662, 663
Fosfato inorgánico (Pi), 398
Fosfodiéster, 344
Fosfodiesterasa, 179, 523
Fosfoenolpiruvato, 185
  carboxicinasa, 164, 185
Fosfofructocinasa, 170, 172, 189
  muscular, deficiencia de, 174
Fosfofructocinasa-1, 189
Fosfofructocinasa-2, 189
Fosfoglicerato
  cinasa, 170, 172
  mutasa, 171
Fosfoglicéridos, 479
Fosfogliceroles
  degradación y remodelado de, 249
  formados mediante acilación de triosa fosfatos, 246
  metabolismo de, 217
Fosfoglucomutasa, 176
6-fosfogluconato deshidrogenasa, 198
Fosfohexosa isomerasa, 170
Fosfoinositidas, 216
Fosfolipasa, 249
Fosfolipasa A1, A2, B y D, 249
Fosfolipasa A2, 249
  citosólica, 720
Fosfolipasa C, 249, 702
Fosfolipasa Cβ, 720
Fosfolipasa D, 249
Fosfolípidos, 212, 250, 254, 257, 479, 481, 483, 624
  anfipáticos, 254
  asimetría de los, 482
  biosíntesis de, 246
  principales constituyentes lípidos de las membranas, 215
  proteínas de intercambio de, 482
  que contienen colina, 482
Fosfoproteínas, 523
  ácidas, 642
  fosfatasas, 523
Fosforilación, 92, 702
  activa a la pol II, 404
  covalente, 93
  de cadenas ligeras de miosina, 659
  de proteína, 94
  reversible, modificación covalente, 188
Fosforilación oxidativa, 116, 126, 127, 130, 140, 662
  en el ámbito de la cadena respiratoria, 131
Fosforilasa cinasa a, 180
Fosforilasa cinasa b, 180
Fosforilasa cinasa sensible a Ca^{2+}/calmodulina, 180
Fosfoserina, 317
Fosfotirosina, 317
Fosfotreonina, 317
Fosfotriosa isomerasa, 170
Fotólisis, 508
Fotometría de llama, 594
Fotosensibilidad, 329
Fototerapia, 741
  de cáncer, 327
Fracción microsomal, 330, 585
Fragmentos de Okazaki, 383, 385, 765
Fronteras de exón-intrón, 102
Fructocinasa, 202
Fructosa, 172
  en el cristalino, 205
  enfermedad por defectos del metabolismo, 205
  hígado cargado con, 205
  ingesta de grandes cantidades de, 202
  intolerancia hereditaria a la, 196, 205
Fructosa 1,6-bisfosfatasa, 187, 198, 205
Fructosa 1,6-bisfosfato, 187

Fructosa 2,6-bisfosfatasa, 64, 65, 189
catálisis mediante, *65*
Fructosa 2,6-bisfosfato, 189
Fructosa 6-fosfato, 187
Fructosuria esencial, 196, 205
Fucosa, 159
Fucosil (Fuc) transferasa, 697
Fuerzas de Starling, 669
Fuerzas de Van der Waals, 8
Fumarasa, 164
citosólica, 294
Fumarato hidratasa, 164
Fumarilacetoacetato hidrolasa, 304
Función catalítica, 162
Furina, 623
Fusión de membrana, 621

G

GABA, 320
Gal transferasa, 698
Gal-Gal-Xil-Ser, 573
Gal-hidroxilisina (Hil), 573
Galactocinasa, 203
Galactosa, 152
1-fosfato uridil transferasa, 203
deficiencias de enzima en la vía de la, 205
para la síntesis de lactosa, 203
Galactosamina, 203
Galactosemia, 152, 196, 205
Galactosidasas, 571
Galactósido, 155
Galactosilceramida (GalCer), 218, 250, 479
GalNAc transferasa, 698
GalNAc-Ser(Tre), 573
Gangliósidos, 156, 159, 218, 250, 479
Gas óxido nítrico (NO), 661
Gasto de energía
medición del, 541
total, 490, 542
Gastroenteropatía perdedora de proteína, 671
Gastrulación por invaginación 1 (TWSG1), 677
Gemación de membrana, 621
Gen(es) *A* codifica para GalNAc transferasa, 697
Gen(es), amplificación de, 727
Gen(es) *B* codifica para Gal transferasa, 697
Gen(es) *cro*, 435
Gen(es) de administración de la casa, 430
Gen(es) eucariontes, 406
Gen(es) eucariótico, amplificar o reordenar…, 448
Gen(es) eucariótico, regulación de la transcripción, 437
Gen(es), expresión constitutiva de, 430
Gen(es), expresión de, 354
desarrollo, diferenciación y adaptación, 429
Gen(es), expresión regulada de, 429
Gen(es) inducible, 430
Gen(es) *lacZ*, 431
Gen(es) nucleares, 610
Gen(es) *O* codifica para producto inactivo, 697
Gen(es) *p53*, 734
Gen(es) procariótico, expresión de, 430
Gen(es) procesados, 380
Gen(es) que codifican inmunoglobulina se reordenan, 380
Gen(es) que codifican para algunas enzimas, 630
Gen(es), regulación de
dirigida por alteración o deleción (*knockout*), 464
dirigida por añadidura/reemplazo de un gen, 464
dirigida por edición y expresión controlada, 464
Gen(es), regulación de la expresión de, 428
Gen(es), regulación positiva y negativa, 429
Gen(es) regulador doble negativo, 429
Gen(es) regulador positivo o activador, 429
Gen(es), reordenamientos en la conversión de, 380
Gen(es) reportero, 440
Gen(es) reportero o quimérico, método del, 440
Gen(es) respuesta tipo B, 429
Gen(es) silenciador o represor, 429
Gen(es) sistemas biológicos, 429
Gen(es) supresor tumoral, 727
Gen(es) supresores tumorales, 2, 726
GenBank, 101
GeneCards, 102
Género masculino, 274
Genética molecular, 451
Genfibrozil, 275
Genoma adenoviral, 455
Genoma de mamíferos, 377
Genoma de secuencias repetitivas, 377
Genoma mitocondrial, 610
Genoma, secuenciación de, 732
Genoma y medicina, 98
Genómica una avalancha de información, 98
Genotipo ZZ, 679
Geranil difosfato, 267
Glándula suprarrenal, 585
GlcNAc-Ser[Tre], 573
Glibenclamida, 231
Gliburida, 231
Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, 170
Glicerofosfato, transbordador de, 134
Glicerofosfolípidos, 212
Glicerol
carbonos 1 y 3 que no son idénticos, 215
cinasa, 246, 261
éter fosfolípidos, biosíntesis de, 248
Glicerol-3-fosfato, 246, 261
aciltransferasa, 246
deshidrogenasa, 246
deshidrogenasa mitocondrial, 121
Glicerolfosfato aciltransferasa, 127
Glicina, 283, 300, 315, 324, 628
complejo de división de, 300
reemplazo de, 642
Glicinuria, 300
Glicoesfingolípidos, 218
Glicofosfatidilinositol (GPI), 481
Glicómica, 3, 465, 570
Globina, 330
Globulina, 669
Globulina de unión a corticosteroide (CBG), 516
Globulina de unión a hormona sexual (SHBG), 517
Globulina de unión a tiroxina (TBG), 516
Glomérulo renal, 634
Glomerulonefritis, 634
Glosar, 102
Glucación, 569, 578
de proteína, 761
Glucagón, 140, 148, 179, 188, 192, 237, 238, 262, 270
Glucanos, 581
Glucobiología, 152
Glucocálix, 159, 218
Glucocinasa, 148, 170, 176, 191
Glucoconjugado, 569
Glucocorticoides, 193, 263, 270, 516, 528
síntesis de, 504
Glucoesfingolípidos, 203, 212, 250, 479, 624, 697
Glucoforina, 159, 573, 695
A, B y C, 696
Glucoformas, 570
Glucofosfatidil-inositol, 577
Glucogénesis, 142
en músculo e hígado, 176
vía separada de la, 178
Glucogénicos, 146, 164
Glucogenina, 176
Glucógeno, 140, 148, 152, 156, 187, 662
biosíntesis de, 176
cebador de, 177
desaparece y aparece lactato, 168
desprendimiento de cadenas existentes de, 178
enfermedades por depósito de, 152, 176
metabolismo del, 176, 557
sintasa, 177, 187
sintasa a, 182
sintasa, acciones de la, 182
sintasa b, 182
Glucógeno fosforilasa, 178, 662, 663
acciones de la, 182
activación de la, 180
cAMP activa la, 180
regulación de la, 179
Glucogenolisis, 142, 178
en el hígado independiente de cAMP, 180
Glucolípidos, 203, 212, 218, 569
enfermedades por depósito de, 245
Glucólisis, 1, 116, 140, 168, 185
anaeróbica, 663, 739
en el hígado, regulación de la, 189
formación de ATP en la, 172
función en condiciones anaerobias, 168
ocurre en el citosol, 144
reacciones de la, 169
regulada en tres pasos, 172
reversión simple de la, 185
y gluconeogénesis comparten la misma vía, 187
Glucoma, 152
Glucómica, 152
Gluconeogénesis, 140, 143, 164, 172, 185
costo de la, 194
en el hígado, regulación de la, 189
Gluconolactona hidrolasa, 198
Glucoproteínas, 37, 159, 203, 482, 569, 669, 681, 697
circulantes, 574
componentes de, 156
depuración de, del plasma, 572
en la fecundación, 579
extracelulares, 493
glucosiltransferasas, 574
lisosomales hidrolasas, deficiencias genéticas de, 581
N-enlazadas, 574
N-enlazadas, biosíntesis de, 575
O-enlazadas, 574
ocho azúcares que predominan en el ser humano, 571
que contienen varios tipos de enlaces *O*-glucosídicos, 573
técnicas para detección, purificación, análisis, 570
tres clases principales, 573
unidas a membrana, 574
Glucosa, 142, 146, 152, 156, 187, 491, 662
alanina, ciclo de, 191
como monosacárido de mayor importancia, 153
como precursor de amino azúcares, 203
concentración sanguínea de, 190
dos principales vías para el catabolismo de, 198
estructura de la, 153
metabolismo aumentado de, 262
principal vía de utilización de, 169

sanguínea, 663
suministro y destino de la, 140
tolerancia a la, 193
transporte de, 491
umbral renal para la, 193
Glucosa 1-fosfato, 187
Glucosa 6-fosfatasa, 178, 187
deficiencia de, 355
Glucosa 6-fosfato, 187
deshidrogenasa, 196, 198
deshidrogenasa, deficiencia de, 693
Glucosa en sangre, 176
control de la, 185
mecanismos metabólicos y hormonales, 191
que proviene de la dieta, gluconeogénesis, 190
Glucosamina, 203, 637
Glucosaminoglucanos, 156, 157, 203, 634
Glucosano, 156
Glucosidasas, 571
Glucósidos, 155
cardiacos, 156, 218
N-glucósidos heterocíclicos, 341
Glucosil ceramida, 479
Glucosilación, 569, 578, 629
cotraduccional, 615
de glucoproteínas, 577
trastornos congénitos de la, 580
Glucosilceramida (GlcCer), 250
Glucosilfosfatidilinositol (GPI), 623
Glucosilfosfatidilinositol-ancladas, 573
Glucosiltransferasa, 569, 576, 635
Glucosinasa, 172
Glucosinceramida, 218
Glucosuria, 193
Glucuronato, 200
Glucuronidación, 586
β-glucuronidasas, 332
Glucurónido, 196
de bilirrubina, 332
Glutamato, 165, 282, 290
deshidrogenasa, 283
forma α-cetoglutarato, 299
L-glutamato deshidrogenasa hepática, 291
γ-glutamiltransferasa (GGT), 586
Glutamina, 165, 283
amoníaco como, 292
análogos de, 348
forma α-cetoglutarato, 299
sintetasa, 283, 292
Glutaminasa, 292, 299
Glutatión, 693
conjugación con, 586
peroxidasa, 122, 200
peroxidasa protege a los eritrocitos de la hemólisis, 200
reductasa, 200, 205
S-transferasas, 586
GM1, 218
GMP, retroacción por, 350
Golpe de potencia, 651, 652
Gota, 261, 354
Gradientes electroquímicos, mantenimiento de, 490
Grados de libertad, 8
Grados máximos de libertad, 8
Gráfico de Dixon, 83
Gráfico de Lineweaver-Burk, 80
Gráfico del doble recíproco, 80, 82
Gramicidina, 489
Granulocitos, 700, 703
Gránulos, 703
α, 698
de almacenamiento, 720
de secreción, 509
densos, 698
Grasa(s), 212
de leche, 257
Grehipófisis, parte anterior de la, 192
Gripe
A, virus de la, 581
aviar H5N1, virus de la, 581
Griseofulvina, 665
GRO-Seq, 465
GroEL, 609
Grupo(s) de la cabeza polar, 479
Grupo(s) flavina, 121
Grupo(s) hem *a* y a_3, 130
Grupo(s) prostéticos, 61
Grupo(s) prostéticos derivados de vitaminas B, 62
Grupo(s) prostéticos en la estructura de una enzima, 62
Grupo(s) sanguíneo, 696
Grupo(s) sanguíneo, sustancias de, 569
GTPasas, 612
monoméricas pequeñas, 613, 622
Guisante de olor, 19
L-gulonolactona oxidasa, 200

H

H_2S, 132
Haplotipo, 101
mapa de, 102
Haplotype Map (HapMap) Project, 102
Haptoglobina, 672
formas polimórficas, 673
HBA_{1c}, 579
HDL, 258
ciclo del, 259
Hefaestina, 673
Hélice
α, 37, 38
α, mioglobina rica en, 52
anfipáticas, 39
asa-hélice, motivos de, 39
giro-hélice, 444
Hem (hemo), 52, 323, 324
enzima reguladora clave en la biosíntesis hepática, 326
forma férrica, 330
oxidación del hierro, 692
oxigenasa, 330, 672
trastornos de la biosíntesis del, 329
Hemaglutinina, 581
Hematoma, 331
Hematoporfirina, 327
Hemes del tetrámero de hemoglobina, 56
Hemiacetal, 153
Hemina, 330
Hemocromatosis, 541
hereditaria, 679, 693
Hemofilia, 668
Hemofilia A, 717
Hemofilia B, 717
Hemoglobina(s), 51, 330
A, 579
acompañada de grandes cambios de conformación, 55
2,3-bisfosfoglicerato, 57
Chesapeake, 58
estructuras cuaternarias, 54
estructuras secundarias y terciarias, 54
extracorpuscular, 672
funciones fisiológicas, 53
glicada (HbA_{1c}), 58
hemes del tetrámero de, 56
humanas, mutaciones que afectan las, 57
M, 57
mioglobina y subunidades β, 54
oxigenación de la, 55
propiedades alostéricas de las, 54
S, 58
tetraméricas, 54
transporta CO_2 hacia los pulmones, 56
transporta protones hacia los pulmones, 56
Hemoglobinopatía, 57, 694
Hemoglobinuria paroxística nocturna, 580, 694
Hemojuvelina, 677
Hemolisina(s), 694
Hemolisina(s) α, 490
Hemólisis, la alteración de la vía de la pentosa, 204
Hemopexina, 673
Hemoproteína, 120, 323
Hemosiderina, 674
Hemosiderosis, 674, 679
Hemostasia, 698, 711
fases de la, 721
Heparán sulfato, 634, 637, 638, 720
Heparina, 159, 257, 633, 634, 637, 717
cofactor II de, 717
de bajo peso molecular (LMWH), 717
Hepatitis, 161, 334, 680
Hepatocarcinoma, 260
Hepatocitos, 324, 572
Hepatopatía alcohólica, 261
Hepcidina, 676
Heptosas, 152
Heterociclos, 340
Heterocromatina, 374
constitutiva, 374
facultativa, 374
Heterodímero, 41, 666
Heterogeneidad(es)
genética, 654, 658
regionales, 482
Hexapéptido, 671
Hexocinasa, 169, 172, 176
valoración enzimática, *68*
Hexosaminas, 156, 203
Hexosas, 152
de importancia fisiológica, **155**
vías del metabolismo de, 196
Hialuronidasa, 639
Hibridación, 361, 456
in situ, 459
in situ fluorescente (FISH), 459
Hibridoma, 685
Hidrocarburos, 212
Hidrofobicidad, 332
Hidrógeno
deshidrogenasas no pueden usar oxígeno, 120
enlaces de, 360
moléculas de agua que forman enlaces de, 7
oxígeno como aceptor de, 120
peróxido de, 122, 586, 704
sulfuro de, 120
Hidrolasas, 61
ácidas, 493
lisosomales, 638

Hidrólisis, 9
en el catabolismo de triacilgliceroles, 246
Hidropatía, gráfico de, 481
Hidroperoxidasas, 120, 122
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), 226
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa, 227
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa, 227
L(+)-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, 225
3-hidroxiantranilato, 123
Hidroxiapatita, 640
D(−)-3-hidroxibutirato deshidro, 226
D(−)-3-hidroxibutirato, 226
Hidroxiesteroide deshidrogenasa, 503
Hidroxilación, 583, 584, 629
Hidroxilasa, ciclo de la, 124
7α-hidroxilasa, 274
17α-hidroxilasa, 504
18-hidroxilasa, 503
Hidroxilasas, 123
Hidroxilisina, 285
5-hidroxilisina, *18*
Hidroximetilbilano sintasa, 324
Hidroxiprolina, 285, 628, 631
4-hidroxiprolina, *18*
4-hidroxiprolina deshidrogenasa, 303
15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa, 240
Hierro, 673
absorción de, 541
balance negativo de, 678
capacidad total de unión a, 678
de la dieta inorgánico, 673
en eritrocitos senescentes, 672
en movimiento hacia el plano del hem, 52
hem, ambiente adverso para el, 53
hem y ferroso, 52
homeostasis del, 675
indicador de reservas corporales de, 673
intracelular, homeostasis de, 676
sobrecarga secundaria de, 679
toxicidad por, 493
Hígado, 178, 508
cargado con fructosa, 205
graso agudo del embarazo, 231
graso de origen alcohólico, 261
y músculo, 179
Hiperamonemia, 161
Hiperbilirrubinemia
causante de ictericia, 332
conjugada, 333
no conjugada, 333
por regurgitación, 332
por retención, 332
tóxica, 333
Hipercolesterolemia, 205, 254
familiar (FH), 258, 275
Hipercromicidad, 361
Hiperesplenismo, 694
Hiperfenilalaninemias, 304
Hiperglicinemia no cetótica, 300
Hiperglucemia, 185
Hiperhidroxiprolinemia, 304
Hiperlacticacidemia, 261
Hiperlipoproteinemia, 253, 275
Hipermetabolismo, 168
Hipermetioninemia, 316
Hiperomocisteinemia, 560
Hiperoxaluria primaria, 300
Hiperplasia prostática benigna (BPH), 740
Hiperprolinemia tipo I, 299
Hiperprolinemia tipo II, 299
Hipertermia maligna (MH), 647, 654
Hipertriacilglicerolemia, 205, 254
Hipertrigliceridemia, 254
Hiperuricemia, 205
Hipoceruloplasminemia, 675
Hipocondroplasia, 645
Hipoglicina, 223, 231
Hipoglucemia, 185, 194, 205, 223, 231
en el embarazo y en el recién nacido, 193
Hipolipoproteinemia, 253, 275
Hipótesis
de la señal, 608
del latido cardiaco, 764
del reclutamiento, 405
metabólica o de la tasa de vida, 764
Hipouricemia, 355
Hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa, 355
Hipoxia, 676, 677, 736
Histamina, 706
Histidasa, 299
Histidemia, 299
Histidina, 299, 315
distal, 52
F8 y E7, 52
proximal, 52
Histona, 371
acetiltransferasa (HAT), 531
código de, 92, 437, 438
código epigenético de modificaciones de, 404
como proteínas de cromatina, 371
desacetilasa (HDAC), 94, 735
H1, 371
H2A, 371
H2AX, 390
H2B, 371
H3, 371
H4, 371
modificación covalente de, 437
HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA), 226, 227
liasa, 231
reductasa, 267
reductasa, regulación de la, 270
sintasa, 267
hnRNA, 376
Hoja β, 37, 39
antiparalela, 39
paralela, 39
plegada, 680
Hojuela interna, 482
Holoenzima, 397
Holotransferrina (Tf-Fe), 674
Homeostasis, 87
en el ER, 618
Homocistinuria, 302, 316
Homodímeros, 41
de dos cadenas polipeptídicas, 233
Homogentisato dioxigenasa, 123
Homogentisato oxidasa, 304
Homología Src 2 (SH2), 526
Hormocarnosinosis, 320
Hormona(s), 487, 569
adrenocorticales, 218
adrenocorticotrópica (ACTH), 262
clasificación de varios modos, 500
de crecimiento, 263
del grupo I, 519
del grupo II, 520
dependientes de Ca^{2+}, acción de, 525
diabetogénicas, 192
diversas en el aspecto químico, 501
en la movilización de grasa, 262
esteroide, acción de, 557
estimulante de la tiroides, 262
estimulante de la tiroides (TSH), 598
estimulante de melanocitos α y β, 262
glucocorticoides, 528
paratiroidea (PTH), 512
proteínas de transporte en el plasma, 516
que actúan mediante calcio o fosfatidilinositoles, 524
que actúan mediante segundos mensajeros, 91
que actúan por medio de una cascada de proteína c, 526
que afectan la glucosa en sangre, 192
que modulan la transcripción, 528
sexuales, 218
síntesis a partir de precursores peptídicos, 511
síntesis a partir del colesterol, 502
síntesis y modificación, 502
sintetizadas en diversos arreglos celular, 500
tiroideas, 263, 270, 516
tiroideas a partir de tirosina, 509
variación del almacenamiento y secreción de, 515
y citocinas que usan la vía de la Jak/ST, 526
Horquilla de replicación, formación de la, 383
Hoyuelos cubiertos, 493
HPLC cromatografía líquida de alta presión, 26
Hsp60, 609
Hsp70, 610
Hueso como tejido conjuntivo mineralizado, 640
Human Genome Project, 3
Human Genome Project (HGP), 98
Hiperuricemias, 354
Huso mitótico, 665

I

Ibuprofeno, 232, 240
IC_{50}, 83
Ictericia, 323, 598
acolúrica, 332
colestática, 333
colúrica, 332, 333
fisiológica neonatal, 332
hiperbilirrubinemia causante de, 332
obstructiva, 259
secundaria a hemólisis, 334
Idiotipo, 684
Importación celular, 611
Importinas, 612
Impulso nervioso, 653
transmisión de, 491
In silico, 102, 107
Inanición, 113, 231, 261
Índice de flip-flop extraordinariamente lento, 482
Índice de inicio, 421
Índice de reacción, concentración de sustrato, 78
Índice de reacción, muchos factores afectan el, 75
Índice de reacciones, 74
Índice de reacciones catalizadas por enzima, 77
Índice glucémico, 156, 538
Índice inicial, condiciones de, 78
Índice metabólico, 113
Índice metabólico basal (BMR), 542
Indometacina, 240
Inductor(es), 89
gratuito, 431

o activador, 430
que desreprime el operón *lac*, 431
Inestabilidad genómica, 731
Infarto de miocardio, 599
enzimas que ayudan al diagnóstico, 68
Infección lítica, 434
Infecciones recurrentes, 581
Inferencias biomédicas, 58
Inflamación, 232
crónica, 742
Inflamasoma, 742
Información biológica, 152, 569
Información genética desde el DNA hacia el RNA, 413
Inhibición basada en mecanismo, 83
Inhibición competitiva, 83
Inhibición competitiva y no competitiva, 81
Inhibición del producto, estudio de, 84
Inhibición no competitiva, 83
Inhibidor(es)
basados en mecanismo, 81
circulantes, 717
competitivos típicamente, 82
de fibrinólisis activable por trombina, 718
de la apoptosis (IAP), 734
de la vía del factor hístico (TFPI), 713
de serina proteasa, 679
estrechamente unidos, 83
evaluación de, 82
irreversibles que envenenan enzimas, 83
no competitivos simples, 82
orales, 717
Inhibidor-1, 180
Iniciador met-RNA (met-RNAi), 419
Iniciadoras, 733
Inmunidad humoral, 707
Inmunidad innata, 581
Inmunoanálisis ligados a enzima, 67
Inmunogenicidad, 685
Inmunoglobulinas (Ig), 668, 681
Inmunoprecipitación de cromatina (ChIP), 465
Inmunoterapia, 741
Inosina monofosfato (IMP) sintetizada, 348
Inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), 702
Inositol trifosfato, 216
Insig (gen inducido por insulina), 270
Insuficiencia cardiaca, 647
Insuficiencia hepática, 260
Insuficiencia pancreática, 558
Insulina, 140, 147, 169, 180, 237, 238, 257, 263, 270, 512, 624
en la regulación de la glucosa en sangre, 192
que inhibe la lipólisis en el tejido adiposo, 262
regula la lipogénesis mediante otros mecanismos, 237
resistencia a la, 578
transmisión de señales por medio de cascadas, 526
Integración cromosómica con algunos virus, 379
Integrinas, 579, 633, 702
Interacciones célula-célula, 574
Interacciones cooperativas, 56
Interacciones de Van der Waals e hidrofóbicas, 360
Interacciones electrostáticas, 8
Interacciones farmacológicas, 585
Interacciones hidrofóbicas, 8
Intercambiadores aniónicos, 27
Intercambiadores catiónicos, 27
Intercambio interórgano, 289
Interferones, 706
Interleucina(s), 706
Interleucina(s) 1 y 6, 643
Interleucina(s)-1 (IL-1), 671
Interleucina(s)-6 (IL-6), 677
Intermediarios de estado de transición tetraédrico, 64
Intermediarios únicos, 89
Intrones, 376, 406, 414
eliminación de, 407
Inulina, 156, 634
Iodopsina, 547
Ion(es)
canales de, 491
de hidrógeno, concentración de, 10, 78
electrodos específicos para, 594
transbordadores de membrana para diversos, 489
transportadores y canales de, 477
Ionización de electroespray, 31
Ionóforos, 134, 489
Isocitrato deshidrogenasa, 163, 234
Isoleucina, 285
D5,4-isomerasa, 503
Isomerasas, 61
Isomerismo azúcares, 153
Isomerismo D y L, 153
Isomerismo de aldosa-cetosa, 154
Isomerismo geométrico, 213
Isomerismo óptico, 153
Isoniazida, 587
Isopentenil difosfato, 267
Isoprenilación, 481
Isoprenoide, unidades de, 267
Isoprostanos, 220
Isotipo, cambio de clase o de, 684
Isovaleril-CoA deshidrogenasa, 309
Isozimas, 66
Isquemia, 168

K

K_{eq} como proporción de constantes de índice, 76
Kernícterus, 332
K_m, determinación de, 79
K_m, efectos alostéricos en, 91
K_m puede aproximar una constante de unión, 80
Ku70/80, 390
Kwashiorkor, 281, 541, 543, 671
en niños con nutrición insuficiente, 543

L

L-dopa, 509
Lactato, 190
deshidrogenasa, 171
producción de, 171
Lactosa, 156, 203
en *E. coli*, análisis del metabolismo de, 430
intolerancia a la, 152, 537, 538
sintasa, 203
Lámina(s), 375
A, 666
basales, 634
Laminina, 627, 634
Lanosterol, 267, 269
formación de, 268
Láser de argón, 327
Lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT), 249, 259, 272
plasmática, 272
Lectina(s), 159, 216, 570, 572, 686
de unión a manosa (MBL), 686
vía de la, 686
Lectoras de código, 437
Lesiones ateroscleróticas, 640
Leucemia, 699, 700
mielocítica crónica (CML), 740
Leucina, 285
aminomutasa, 558
Leucocitos, 579, 700
II, deficiencia de adhesión de, 580
migración en respuesta a señales químicas, 701
móviles, 701
polimorfonucleares, 701
producción de, 701
uso de efectores secretados, 706
Leucopenia, 700
Leucotrienos, 213, 239, 240, 706
B4, 242
como potente regulador de muchos procesos morbosos, 242
formados por medio de la vía de la lipooxigenasa, 240
Leucovorín, 559
Levadura libre de células, extracto de, 1
Liasas, 61
Ligandina, 331, 586
Ligando, 671
alostérico, 94
canales activados por, 489
Ligasas (E3), 61, 620
Lincomicina, 426
Línea Z, 648
Linfocitos, 701
B (células B), 680, 700
de memoria, 701
producción de anticuerpos protectores, 706
T (células T), 680, 700, 706
Lipasa, 246
hepática, 257
sensible a hormona, 61, 261, 262
Lipidación de proteína, 481
Lípido(s), 143, 478
anfipáticos, 220, 254
complejos, 212
composiciones de, 624
contenido de, 483
cuatro clases principales de, 254
de importancia fisiológica, 211
de las membranas mitocondriales, 217
de membrana anfipáticos, 479
de membrana que forman bicapas, 480
deterioro del transporte de, 241
digestión y absorción de, 538
enfermedades por depósito de, 251
establecimiento de asimetría de, 482
gotitas de, 261
hígado en el transporte y metabolismo, 259
ingreso inútil de, 543
insolubles en agua, 212
metabolismo de, 140
neutrales, 212
precursores y derivados, 212
simples, 212
solubles en solventes no polares, 212
transporte en el plasma como lipoproteínas, 254
transporte y almacenamiento de, 253
vía central del metabolismo de, 161
Lipidómica, 3, 465
Lipidosis, 250

Lipinas, 246
Lipogénesis, 142, 143, 232
  mecanismos a plazos corto y largo regulan la, 236
  regulada por el estado nutricional, 236
Lipólisis, 143, 261
Lipooxigenasa, 220
  vía de la, 213, 239, 240
5-lipooxigenasa, 240
Lipooxinas formadas por medio de la vía de la lipasa, 240
Lipopolisacáridos, 686
Lipoproteína(s), 37, 143, 212, 254, 255, 669
  aterogénicas, captación de, 720
  capa superficial única de, 254
  carbohidratos en, 159
  centro no polar de, 254
  de alta densidad (HDL), 254, 267
  de baja densidad (LDL), 254, 267, 493
  de densidad intermedia (IDL), 258
  de muy baja densidad (VLDL), 143, 148, 230, 253, 254, 255
    catabolizadas con rapidez, 257
  lipasa, 143, 257, 637
  miscibles en agua, 253
  plasmáticas, 271, 553
    bloqueo metabólico en la producción de, 261
    cuatro grupos principales de, 254
    trastornos primarios de, 275
  remanentes, 257
    hígado en la captación de, 258
Liposomas, 220, 482
Lipoxinas (LX), 213, 239, 240
Líquido extracelular (ECF), 478
Líquido intracelular (ICF), 478
Líquido intracelular y extracelular, 478
Lisil hidroxilasa, 285, 628
Lisil-leucil-tirosil-glutamina, 22
Lisina, 306, 562, 680
  acetiltransferasa, 94
  equilibrios protónicos de, *21*
Lisis oxidasa, 631
Lisofosfatidilcolina, 217, 249
Lisofosfolipasa, 249
Lisofosfolípidos, 217
Lisolecitina, 217, 249
Lisosomas, 88, 178
  primarios, 492
  secundarios, 492
Locus operador, 431
Locus, regiones de control de, 443
Lógica simbólica, 107
Longevidad, lapso de vida en contraposición con, 756
LRP-1 (proteína relacionada con receptor de LDL), 258
Lupus, 700

M

Macrófagos, 672, 700, 701, 704
α_2-macroglobulina, 680, 706, 717
Macromoléculas, 492
  transporte de, 610
Maduración en cisternas, 623
Malato deshidrogenasa citosólica, 294
Malonato, 132
Malonil acetil transacilasa, 233
Malonil-CoA, 229
  producción de, 233
Maltosa, 156
Mananos, 686
Manosa 6-fosfato, 493
Manosa, cadenas altas en, 576
Manosamina, 203
α-manosidosis, 581
Mapas de haplotipo, 102
Mapas de interacción molecular, 107
Mapas de interacción molecular (MIM), 108
Mapas de restricción, 452
Mapeo de gen, 459
Marasmo, 113, 281, 541, 542
Marcadores
  de la función gastrointestinal, 599
  de riesgo cardiovascular, 599
Mastocitos, 637, 700, 706
Material genético, alteración y reordenación de, 379
Matrices metaloproteinasas (MP), 737
Matriz extracelular (ECM), 627, 737
Matriz mitocondrial, 127, 162, 610
Matriz nuclear, 373
Mecanismo(s) alostéricos y hormonales, 145
Mecanismo(s) combinatorios, 684
Mecanismo(s) de cambio de unión, 131
Mecanismo(s) de ping-pong, 487
Mecanismo(s) de ping-pong para transaminación, *63*
Mecanismo(s) de reacción, 74
Mecanismo(s) enzimáticos y químicos, 762
Mecanismo(s) homeostáticos, 518
Medicamentos hipolipidémicos, 275
Medicina de diseñador, 98
  desafíos potenciales de la, 99
Medicina preventiva, investigación bioquímica, 3
Médula ósea, 324
  trasplante de, 251
Membrana(s), 220
  ajustes de la composición y función, 485
  artificiales, 482
  basal de los riñones, 638
  basolateral, 491
  celular, 218
  con contenido de carbohidratos, 478
  con contenido de lípidos, 478
  con contenido de proteínas, 478
  con contenido de proteínas integral, 482
  conceptos de montaje de, 608
  del retículo endoplasmático liso, 585
  estructura y función, 477
  estructuras asimétricas, 482
  estructuras dinámicas, 481
  externa, 127
  glomerular, 634
  integrales, 482
  interna, 127
  mitocondrial, estructura de la, *127*
  mitocondrial externa e interna, 610
  mitocondrial, impermeabilidad relativa, 133
  mitocondrial interna, 127, 224
  periféricas, 482
  plasmáticas, 477, 479
  que contienen proteínas, 480
Menadiona, 554
Menaquinona, 554
Mensajeros intracelulares, 520
6-mercaptopurina, 348
Meromiosina
  ligera (LMM), 650
  pesada (HMM), 650
Merosina, 634
Metabolismo, 114
Metabolismo aeróbico, 663
Metabolismo, circulación de la sangre, 142
Metabolismo de carbohidratos, 140
Metabolismo de energía cardiaco, 658
Metabolismo, errores congénitos del, 2
Metabolismo general, 647
Metabolismo óseo, regulación del, 642
Metabolismo, perspectiva general del, 139
Metabolitos flujo de, a traves de vías metabólicas, 145
Metabolitos flujo unidireccional de, 88
Metabolitos hidrosolubles, 355
Metabolitos, regulación activa o pasiva, 88
Metabolómica, 3, 465, 594
Metabonómica, 594
Metahemoglobina, 57
Metahemoglobinemia, 692
  adquirida, 692
  hereditaria, 692
Metaloenzimas, 62
Metaloproteínas, 37
Metástasis, 569, 736
Metilación, 92, 587
  de residuos desoxicitidina, 438
Metileno, 326
N-metilglicina, 318
7-metilguanosina, 409
3-metilhistidina, 663
Metilmalonicaciduria, 187
D-metilmalonil-CoA, 187
L-metilmalonil-CoA, 187
Metilmalonil-CoA mutasa, 187, 558
Metilmalonil-CoA racemasa, 187
Metionina, 308, 315, 679
  sintasa, 558
Método enzimático manual de Sanger, 457
Metotrexato, 354, 559
Metrotexato, 353
Mevalonato, 267
  biosíntesis de, 267
Micelas, 220, 480
Micro-RNA (miRNA), 368
Microalbuminuria, 597
Microarreglos, 570
Microfibrillas, 632
Microfilamentos, 665
β_2-microglobulinemia, 680
Microheterogeneidad, 570
Micronutrientes, 546
MicroRNA (miRNA), 394
  derivación de transcritos primarios, 409
Microsatélite, inestabilidad de, 731
Microscopia por crioelectrones, 44
Microtúbulos, 622, 664, 665
Microvellosidades, 484
Microvesículas, 494
Mielina, 218, 250
  láminas de, 491
  vaina de, 216
Mielodisplasia, 692
Mielofibrosis, 700
Mieloperoxidasa, 705
Migración celular, 633, 637
Minerales, 546
  digestión y absorción de, 541
  para funciones fisiológicas como químico, 562
  y agua, 3
Mineralocorticoide, síntesis de, 503

Miocardiopatía, 647
dilatada, 655, 659
hereditaria, 657
hipertrófica familiar, 658
Miocinasa, 117
Miofibrillas, 647, 648
Mioglobina, 51, 662
de la hemoglobina, 54
estructura tridimensional de la, *52*
funciones fisiológicas, 53
rica en hélice α, 52
Mioglobinuria, 58
Miopatía, 127
congénita de corpúsculos centrales, 655
mitocondrial mortal infantil, 135
Miosina, 650, 665
cinasa de cadena ligera de, 659
como proteína del músculo, 649
con proteasa, digestión limitada de, 650
desprendimiento de cabezas de, 654
en filamentos gruesos, 648
fosforilación de cadenas ligeras de, 659
β-miosina cardiaca, cadena pesada de la, 658
Miosina-II, 650
Miristoilación, 481
Mitocondrias, 144, 585, 760
transporte de ion en las, 135
Moco, 574
Modelado de homología, 44
Modelado molecular, 44
Modelo de adaptación inducida, 64
Modelo de mosaico fluido, 483
Modificación alostérica instantánea, 188
Modificación covalente, 31, 90, 173
que regula el flujo, 94
reguladoras reversible, 92
reversible, 92, 93
Modificaciones postraduccionales (PTM), 36, 371, 625
Modificadores alostéricos y hormonales, 145
Moléculas anfipáticas, 220
Moléculas bicatenarias, 368
Moléculas de adhesión celular (CAM), 736
Moléculas de mRNA, 612
Moléculas de tRNA supresor, 418
Moléculas del MHC clase I, 620
Moléculas funcionales principales, 481
Moléculas hidrofílicas, 220
Moléculas hidrofóbicas, 220
Moléculas hidrosolubles, 480
Moléculas pequeñas no cargadas, 133
Moléculas que no son liposolubles, 480
Moléculas quiméricas, 451
Moneda de energía, 131
Monoacilglicerol
aciltransferasa, 246
vía del, 246, 539
Monocitos, 700, 701
Monoglucurónidos, 331
Mononucleótidos, 350
Monooxigenasas, 123, 583, 584
Monosacáridos, 152, 154
absorción en el intestino delgado, 538
Monoyodotirosina (MIT), 510
Motivos, 102
Motivos LXXLL, 532
Motivos RRM (reconocimiento de RNA), 407
Motores moleculares, 665
Movilización rápida de una actividad, 92
Movimiento transversal, 482
mRNA
alterados, 417
diferentes, empalme alternativo, 408
molécula de, 414
policistrónico, 430
precursores de, 376
Mucinas, 573, 574
secretoras, 574
unidad a membrana, 574
Mucolipidosis, 639
Mucopolisacáridos, 157
Mucopolisacaridosis, 627
Mucopolisacaridosis (MPS), 638
Muerte celular, 726
excesiva, 735
programada, 216, 392
Muescas en cadena de doble hélice, 386
Multiplexinas, 629
Músculo cardiaco, 69, 647
Músculo esquelético, 143, 491, 647, 653
Músculo, estado inhibido del, 653
Músculo estriado, 69, 653, 656, 659
Músculo liso, 69, 647, 659
Músculo y citoesqueleto, 647
Mutación(es), 379, 614
conductoras, 741
constitutiva, 430
daño por radicales y, 565
en el gen, 658
en genes que codifican para colágeno, 630
espontáneas, 724
por cambio de cuadro, 417, 418
por sustitución de base, 416
puntuales, 416, 460
que afectan las hemoglobinas humanas, 57
que afectan proteínas de membrana, 496
silentes, 416
sin sentido, 418, 658
sin sentido equivocado, 418
supresoras, 418
Mutagénesis
dirigida hacia sitio, 71
información mecanicista y, 71

N

N-acetilgalactosamina, unidades de, 575
Na^+-K^+-ATPasa, 490
NaCl, 491
NAD, 556
NAD(P), deshidrogenasas dependientes de, 67
NAD^+, 198
NADH
ciclo de la β-oxidación que genera, 225
deshidrogenasa, 121
extramitocondrial, oxidación de, 134
NADH-Q oxidorreductasa (complejo I), 127
NADP, 556
como fuente de ADP-ribosa, 556
$NADP^+$, 198
NADPH, 196, 585
citocromo P450 reductasa, 585
hemoproteína reductasa, 693
intramitocondrial, 134
oxidasa, mutaciones, 705
oxidasa, sistema de, 704
para la lipogénesis, principal fuente de, 234
Nanotecnología, 3, 66, 741
Naturaleza multifactorial, 97
ncRNA
modulan la expresión de gen, 447
pequeños, 368
Necrosis, 733
efectos proinflamatorio y promotor, 735
Neoplasias, 722
Nervios mielinizados, 212
NET-seq, 465
NeuAc, 574
Neuraminidasa, 571, 581
Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON), 496
Neutrófilos, 700, 701, 704, 705
NF-κB, 579
vía de la, 528
Niacina, 121, 164, 556
deficiencia de, 557
tóxica en exceso, 557
Nicotina, 585
Nicotinamida, 62, 556
adenina dinucleótido (NAD^+), 121
adenina dinucleótido fosfato ($NADP^+$), 121
oxidación y reducción de coenzimas, *122*
Nitrito, 661
Nitrógeno α-amino, 290
Nitrógeno, balance de, 543
negativo, 543
positivo, 543
Nitrógeno como amoníaco, eliminación de, 291
Nitrógeno de aminoácidos, 287
Nitrógeno en humanos, catabolismo de, 292
Nitrógeno, metabolismo de, 291
Nitroglicerina, 661
Nivel de actividad física (PAL), 542
Nivel subcelular, 144
NO sintasa, 661
inhibidores químicos de la, 661
Nódulos de Ranvier, 491
Nomenclatura sistemática, 584
Noradrenalina, 179, 510
Norepinefrina, 179, 262, 264
Northern (RNA), 456
Nucleasas, 9
Drosha-DGCR8, 409
específicas que digieren ácidos nucleico, 368
Nucleofílicos, 62
Nucleófilos, 9
Nucleósido(s) difosfato, 340
Nucleósido(s) difosfato cinasa, 118
Nucleósido(s) en mononucleótidos, 350
Nucleósido(s) monofosfato cinasas (NMP), 118
Nucleósido(s) *N*-glucósidos, 340
Nucleósido(s), propiedades químicas de los, 340
Nucleósido(s) purina fosforilasa, deficiencia de, 355
Nucleósido(s) trifosfatos, 118, 340, 343
no hidrolizables, análogos de, 344
Nucleosomas, 371, 403
con contenido de histona y DNA, 371
Nucleótido(s), 103, 339
adenina, 117
adenina, ciclos del fosfato, *118*
análogos de, sintéticos en quimioterapia, 343
azúcar, 571, 574
como ácidos polifuncionales, 342
como nucleósidos fosforilados, 340
desempeñan diversas funciones fisiológicas, 343
mutaciones en la secuencia de, 416
propiedades químicas de los, 340
que absorben luz ultravioleta, 342

secuencia de, 414
Nucleótido(s) pirimidina
biosíntesis de, 352
biosíntesis regulada de modo coordinado, 354
metabolismo de, 347
regulación de la biosíntesis de, 354
Nucleótido(s) purina
biosíntesis de, 348
biosíntesis regulada de modo coordinado, 354
catalíticos multifuncionales en la biosíntesis de, 348
metabolismo de, 347
3′,5′-nucleótido fosfodiesterasa, 263
Número de recambio, 80
Números variables de repeticiones en tándem (VNTR), 574
Números variables de unidades repetidas en tándem, 464
Nutrición
digestión y absorción, 537
excesiva o insuficiente, 541
insuficiente, 537
insuficiente, formas extremas de, 542
investigación bioquímica sobre la, 3
Nutrientes antioxidantes, 564
Nutrigenómica, 3

O

O_2 liberación en los tejidos, 56
Obesidad, 113, 140, 212, 232, 254, 274, 541
Obstrucción completa del conducto biliar, 333
Obstrucción del colédoco, 334
Octámero de histonas, 371
Oligómeros intactos, 614
Oligomicina, 132
Oligonucleótido, síntesis sistemática de, 457
Oligosacárido(s), 153
cadenas de, 569
O-enlazados, 574
procesamiento de, 577
procesamiento de las cadenas de, 608
proteína transferasa, 615
sialilados y fucosilados, 580
tipo complejo, 576
Oncogenes, 2, 726
Operador derecho, 434
Operón, 430
análisis del, 430
lac, 430
modelo del, 430
Opsonización, 703
Orden al azar, 84
Orden cinético, 76
Orden forzoso, 84
Organismos aeróbicos, 124
Organismos autotróficos, 115
Organismos eucarióticos, 377
Organismos eucarióticos, núcleos de células de, 371
Organismos heterotróficos, 115
Organismos modelos, 30
Organismos unicelulares y multicelulares, 430
Orgánulos subcelulares, 610
Origen clonal, 723
Orina, constituyentes anormales de la, **597**
Ornitina, 293
δ-aminotransferasa, 299
permeasa, 295
transcarbamoilasa, 295
L-ornitina transcarbamoilasa, 294
Orotidinuria, 357
Osteoartritis, 627, 640
Osteoblastos, 640, 642
Osteocalcina, 562
Osteocitos, 640
Osteoclasto, 640
Osteogénesis imperfecta, 281, 642
Osteomalacia, 553
Osteopetrosis, 642
Osteopontina, 642
Osteoporosis, 553, 643
Ouabaína, 156, 491
Oxaloacetato, 144, 298
Oxidación biológica, 119
Oxidación de ácidos grasos, 223, 225
Oxidación de ácidos grasos insaturados, 226
Oxidación de NADH extramitocondrial, 134
Oxidación del hierro hem, 692
Oxidación del piruvato, 168, 172
Oxidación por ceruloplasmina, 675
Oxidación y reducción de coenzimas nicotinamida, *122*
β-oxidación, 141, 224, 229
de ácidos grasos, 224
genera FADH2 y NADH, 225
modificada, vía de, 226
Oxidantes clorados, 705
Oxidasas, 120
Oxidasas de función mixta, 123, 198, 584
Óxido nítrico (NO), 660, 720
Oxidoescualeno:lanosterol ciclasa, 268
Oxidorreducción, 556
Oxidorreductasas, 61, 120
11-oxiesteroides, 193
Oxiesteroles, 220
Oxigenasas, 119, 120
transferencia e incorporación directas de oxígeno, 123
Oxígeno, 52
afinidades relativas de diferentes hemoglobinas, 55
azúcares desoxi que carecen de un átomo de, 156
como aceptor de hidrógeno, 120
curvas de disociación de, 53
deuda de, 172
especies reactivas de, 758
molecular, activación reductiva de, 585
molecular se reduce hacia agua, 130
toxicidad por, 124
transporte de, 692
unión de, 52

P

$P450_{scc}$, 503
p50, 528
P_{50} y afinidades relativas de diferentes hemoglobinas, 55
p65, 528
Pacientes hipermetabólicos, 543
Paclitaxel, 665
Palmitato libre, 232
Pancreatitis aguda, 599
Panproteinasa, 680
Paramecios, 704
Parche pegajoso, 58
Pared arterial, 640
Pares de bases, 361
de Watson-Crick, formación de, 8
formación apropiada con otra cadena, 385
Partículas de montaje, 493
Partículas de reconocimiento de señal, 670
Partículas de reconocimiento de señal (SRP), 614
Partículas de ribonucleoproteína (RNP), 449
Partículas de ribonucleoproteínas (RNP), 425
Patología molecular, 625
Paxilina, 633
pBR322, 455
PDB, 101
Pectina, 157
Pelagra, 556
por deficiencia de triptófano y niacina, 557
Penicilamina, 676
Pentosa fosfato, vía de la, 140, 234, 693
protege a los eritrocitos de la hemólisis, 200
reacciones de la, 198
su alteración conduce a hemólisis, 204
Pentosafosfato, vía de la, 196
Pentosas, 152
de importancia fisiológica, **155**
Pentosuria
alimentaria, 205
esencial, 196, 205
Peptidasas, 288
Peptidil arginina desiminasa, 705
Peptidil prolil isomerasa (PPI), 618
Peptidil-tRNA, 422
Peptidilglicina hidroxilasa, 562
Peptidiltransferasa, 422
Péptido(s), 520
contenido de aminoácidos poco comunes, 22
de 84 aminoácidos, 512
de extensión, 629
estructuras de, 22
fuerzas no covalentes restringen conformaciones de, 23
pequeños, 539
polielectrolitos, 23
pro-opiomelanocortina (POMC), 514
secuenciación de, 29
señal, 671
señal N terminal, 608, 614
volatilización de, 31
y aminoácidos, 15
Pequeña ribonucleoproteína nuclear, 407
Perilipina, 263
Perlecano, 634
Permeabilidad, 487
coeficientes de, 480
selectivas, 477
Peroxidación, 219
lipídica, 219, 220
Peroxidasas, 122, 239
reducción de peróxidos usando diversos aceptores d, 122
Peróxido orgánico como sustrato, 122
Peroxinas, 614
Peroxinitrito, 661
Peroxisomas, 123, 226, 613
biogénesis de, 614
Peso molecular, 28
Peso, pérdida de, 194
PFK-1, 663
pH, 739
agua y, 6
gradiente de, 610
isoeléctrico (pI), 20
logaritmo negativo de la concentración de ion de, 10

PIC (complejo de preinicio), formación del, 403
Piel, 508
  lesiones en la, 241
Pinocitosis, 492
  abortiva, 493
  de fase líquida, 493
Piranosa y furanosa, estructuras en anillo, 154
Piridoxal, 557
Piridoxamina, 557
Piridoxina, 557
Pirimetamina, 559
Pirimidina(s)
  análogos de, 354
  biosíntesis de, 352
  catabolismo de, 355
  excreción de precursores de, 356
  no esenciales en la dieta, 348
  producción excesiva de catabolitos de, 356
  propiedades químicas de las, 340
Pirofosfatasa, 176, 398
  inorgánica, 224
Pirofosfato (PP_i), 398
Pirofosfato inorgánico (PP_i), 117
Piruvato, 133, 185
  carboxilasa, 164, 185
  cinasa, 171, 172, 188, 694
  inhibición del metabolismo del, 174
  oxidación del, 168, 172
Piruvato deshidrogenasa, 172, 173
  complejo de, 172
  deficiencia hereditaria de, 174
  regulada por acil-CoA, 237
PK_a
  valores que dependen de las propiedades del medio, 13
  valores que expresan las potencias de ácidos, 20
  valores que varían con el ambiente, 21
Plaquetas, 689, 698
  factor activador de, 245, 248
Plasma, 669
Plasmalógenos, 248
  en el cerebro y músculo, 217
Plásmidos, 454
Plasmina, 718
Plasminógeno, 718
  activadores del, 718, 720
Pleckstrina, 720
Pliegues de Rossmann, 40
Plomo, 324
Porfirias, 329
Polaridad, 360, 419, 665
Poli ADP ribosa polimerasa (PARP), 390
Poli(A) polimerasa, 409
Polianiones, 636
Policitemia, 58
Polimerización de la desoxihemoglobina S, *58*
Polimorfismo, 460, 585, 670, 696
  de DNA microsatélite, 463
  de longitud de fragmento de restricción, 70, 463
  de microsatélite, 378
  de un solo nucleótido (SNP), 101, 463
Polinucleótidos, 345
  como macromoléculas direccionales, 345
  modificación de, 342
Polioles, 153, 205
Polipéptido(s)
  multifuncionales, 352
  secuencia de un, 29
Pólipos adenomatosos, 729
Poliprenoides, 219
Polirribosomas, 424
  citosólicos, 608, 610
  libres, 607, 618
  unidos a membrana, 608
Polisacáridos, 153, 156
Polisomas, 367
  como montajes de ribosomas, 424
Poliubiquitinación, 288
Porción glicerol, 140
Porciones azúcar, 479, 482
Porfiria(s), 323, 327
  agudas, 330
  clasificación de las, 330
  cutáneas, 330
  eritropoyética congénita, 329
  eritropoyéticas, 330
  hepáticas, 330
  inducida por fármacos, 330
  intermitente aguda, 329
  posibles tratamientos para, 330
Porfirinas, 323, 330
  coloreadas, 326, 327
  con fluorescencia, 327
  hierro, 323
Porfirinógenos
  acumulación de los, 329
  incoloros, 326, 327
Porfobilinógeno, 324
Poros, 634
Positivo verdadero, 592
Potenciadores, 439
  acción de, 440
Potencial de oxidación-reducción, 119
Potencial de transferencia de grupo, 115
Potencial eléctrico, 610
Potente inhibidor de la CDK-ciclina (CKI), 392
Prasugrel, 721
Pravastatina, 275
Prenilación de proteína, 270
Preproalbúmina, 623
Preprocolágeno, 629
Preprohormona, 512
Preproproteína, 608
PreproPTH, 512
Preproteína, 608, 671
Presecuencia, 610
Presión arterial alta, 274
Presión hidrostática, 669
Presión osmótica, 669, 671
Primaquina, 694
Primosoma, 383
Priones, 45
Proalbúmina, 623
Procarcinógenos, 584, 585, 725
Procariotas, regulación de gen en, 447
Procaspasa-6, 734
Procaspasa-8, 733
Procaspasa-9, 734
Procaspasas, 733
Procesamiento de información, 99
Procesamiento nucleolítico específico, 409
Procesamiento postraduccional, 46, 426
Procesos anfibólicos, 164
Procesos bioquímicos normales, 3
Procesos de múltiples pasos, 729
Procesos endergónicos, 114
Procesos exergónicos, acoplamiento a, 114
Procolágeno, 562, 629
  aminoproteinasa, 629
  carboxiproteinasa, 629
  suicidio de, 642
Producto(s), 61
Producto(s) común, 140
Producto(s) de Amadori, 761
Producto(s) ion, 10
Producto(s) terminal, inhibición por, 173
Producto(s) terminales de glucación avanzada (AGE), 578, 761
Producto(s) terminales variados, 290
Proenzimas, 92
  inactivas, 92
Profago, 434
Profármacos, 85, 584
Progenitor linfoide común, 701
Progenitor mieloide común, 701
Progeria, 666
Progesterona, 505
  inhibidores del receptor de, 741
Programación metabólica alterada, 738
Prohormona, 426
Prolil hidroxilasa, 285, 628
Prolil y lisil hidroxilasas, 631
Prolina, 284, 299, 562
Prolina-cis, trans-isomerasa, 45
Promotor(es), 395, 438
  accesibilidad del, 403
  alternativo, utilización de, 408
  bacterianos relativamente simples, 399
  eliminación de, 398
  eucarióticos complejos, 400
  torrente abajo (DPE), 401
Prooxidantes, 567
Propionato, 190
  metabolismo de, *187*
Propionil-CoA, 165
  carboxilasa, 187
Proporción (insulina)/(glucagón), 230
Proporción de actividad física (PAR), 542
Proporciones axiales, 37
Proproteínas, 46, 92
ProPTH, 512
Proquimotripsina, activación de la, 93
Prostaciclinas (PGI), 213, 720
Prostaciclinas (PGI_2), 242
Prostaglandinas (PG), 213, 239, 706
  H sintasa, 239
Prostanoides, 213, 239
  sustancias potentes con actividad, 242
  vía de la ciclooxigenasa en la síntesis, 239
Protamina, 717
Proteasa(s), 9, 61, 92, 288, 539, 574, 623, 643, 706
  aspártica, familia de la, 64
  del HIV, 64
  lisosomales, 620
  procesadora de matriz (MPP), 610
  quimosina, 60
Proteasomas, 288, 619
  con estructura cilíndrica, 620
Proteína(s), 51, 103, 478
  acarreadoras de acilo (ACP), 561
  acarreadoras específicas, 487
  aceleradoras de GTPasa (GAP), 612
  acetilación de, 94
  activada por mitógeno cinasa (MAPK), 526
  activadora de gen que codifica para catabolito, 431

adaptadoras, 493, 733
adhesivas, 636
adicionales, 655
agregadas, 764
ancladas a la membrana plasmática, 577
argonauta, 409
asas y flexiones, 39
asociadas a microfibrillas (MAGP), 632
auxiliares que ayudan al plegado, 45
bioinformática e identificación de funciones de, 34
blanco poliubiquitinada, 620
cantidades pequeñas de datos de secuencia, 30
características macroscópicas, 37
catabolismo de, 287
centrales, 634
cinasa diferentes, 419
citoesqueléticas, 647, 696
citosólica, 610
clave de mamífero, 93
codificada, 414
código epigenético de modificaciones de, 404
combinaciones de elementos de, 443
conformación en contraste con configuración, 36
conformación natural de una, 44
constitutivas, 89
construidas usando principios modulares, 37
convertasa subtilisina/kex9ina tipo 9 (PCSK9), 271
corporal, pérdida de, 544
correguladoras, 529
cuatro órdenes de la estructura de, 37
chaperonas, unión, 610
de degradación en el ER1, 619
de fase aguda, 544, 551, 671
de fijación, 633
de función doble, 505
de fusión recombinantes, 70
de His, 70
de la matriz, 610, 614
de macrófago asociada con resistencia natural 1, 672
de replicación A (RPA) en eucariotas, 386
de terminación, 398
de transferencia de éster de colesterol, 272
de transferencia de triglicérido microsomal (MTP), 259
de transporte de ácido graso de membrana, 255
de unión a ácido graso, 223, 255
de unión a calcio, 554
de unión a carbohidrato, 572
de unión a CREB (CBP), 531
de unión a CREB CBP/p300, 523
de unión a elemento regulador esterol (SREBP), 270
de unión a GTP, 269, 521
de unión a inmunoglobulina (BiP), 616
de unión a manano (MBP), 686
de unión a manosa, 580
de unión a poliubiquitina, 619
de unión a TATA (TBP), 400
de unión a vitamina D, 508
de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico, 523
de unión poly A, 421
del músculo esquelético, 663
desacopladoras, 132, 543
desconocidas, identificación de código de plegamiento, 103
desnaturalizadas, 45
determinación de la estructura primaria, 25
determinación simultánea de cientos de, 33
diferentes, número de, 481
digestión y absorción de, 539
diméricas, 41
disulfuro isomerasa, 45
disulfuro isomerasa (PDI), 618
efectoras Rab, 623
enlaces peptídicos, 37
enzimas que catalizan la digestión de, 539
especializadas, 627
específicas que se unen de preferencia, 482
estabilizadora de hemoglobina α, 46
estructura cuaternaria, 37
estructura helicoidal α de las, 481
estructura primaria, 37
estructura secundaria, 37, 39
estructura terciaria, 37, 39
estructura tridimensional, 41
estructura y funciones de, 1
estructurales, 627
estructuras supersecundarias, 39
fibrosas, 37
fijadoras de cinasa A (AKAP), 523
formación de agregados, 45
formación y rotura de enlaces covalentes, 46
fosfatasa, 93
fosfatasa de cadena ligera, 660
fosfatasa-1, 182
fosfatasa-1 desactiva a la fosforilasa de glucógeno, 180
fosforilación de, 94
globulares, 37
glucosilación rápidamente reversible, 578
glucosilación y distribución de, 608
hacia aminoácidos, degradación de, 288
hierro no hem, 127
hierro-azufre (Fe-S), 127
hipotética, diagrama del ciclo de vida de, *26*
hística, desintegración de, 663
homología, 37
identificación mediante homología, 102
L-α-aminoácidos presentes en, **16**
lisosomales, 625
maduración de, 46
mal plegadas, 618
maquinaria de la síntesis de, 425
MDR-1, 490
Mediadoras (Med), 404
metabolismo de, 281
mitocondriales, 610
modificación postraduccional, 46
monoméricas, 41
morfogenéticas óseas, 677
multienzimática, 233
multifuncionales, 352
múltiples factores estabilizan las estructuras, 41
no histona, 371
nucleares y citosólicas, 573
nucleótidos y, 756
órdenes, 36
para investigación, diagnóstico y comercio, 460
parecida a la C1 de Niemman-Pick, 275
periféricas, 482
perturbación de la conformación de la, 45
plasmáticas, 143, 569, 668
plasmáticas tiol éster, familia de, 680
plegado como proceso dinámico, 45
plegado de, 44
plegado modular, 44
pureza de, 28
Rab, 621
Ran, 612
recambio de, 287
receptoras de manosa 6-fosfato, 581
receptoras de transferrina soluble (sTfR), 678
receptores nucleares, 530
regulada por hierro 1 (IREG1 o SLC40A1), 673
reguladora aguda esteroidogénica (StAR), 503
reguladora Cro, 434
reguladora transmembrana de fibrosis quística, 496
relacionada con haptoglobina, 673
relacionadas con microtúbulos (MAP), 665
relaciones cuantitativas entre estructura y actina, 107
represora, 434
romboides, 619
S, 717
secretoras, 615
secuenciación de, 29
sin plegamiento o con plegamiento parcial, 608
síntesis de, 144, 413, 419
síntesis y degradación de manera continua, 89
SMAD, 677
solubles, 37
solubles destinadas para orgánulos distales al ER, 615
tirosina cinasas citoplásmicas, 526
tráfico y distribución intracelulares de, 607
transmembrana, 487
transportadora de acilo (ACP), 233
ubiquitinadas, 619
ubiquitinadas degradadas en proteasomas, 620
y péptidos se deben purificar antes de analizarlos, 26
Proteína(s) 4.1, 696
Proteína(s) C, 717
endotelial, receptor de, 717
reactiva (CRP), 671
Proteína(s) cinasa, 93, 522
A (PKA), 522
ATM, 96
Proteína(s) cinasa activada por AMP (AMPK), 270
Proteína(s) cinasa C, 720
Proteína(s) cinasa C (PKC), 525
Proteína(s) cinasa dependiente de cAMP, 180, 182, 263
Proteína(s) cinasas dependientes de ciclina (CDK), 388
Proteína(s) de intercambio
aniónico, 695
de fosfolípido, 482, 624
Proteína(s) de membrana, 614
celular, 569
integrales, 37
periféricas, 696
peroxisomales, 614
purificadas, 483
relacionadas con bicapa lipídica, 481
Proteína(s) G, 521, 702
heterotrimérica compuesta de subunidades α, β y γ, 521
Proteína(s)-DNA, mapeo de interacción, 465
Proteína(s)-RNA, el inicio comprende varios complementos, 419
Proteinasas, 737

Proteinuria, 597
Proteoglucanos, 157, 200, 203, 569, 573, 627, 630, 634, 636, 640, 643
Proteólisis
  parcial, 92
  selectiva, 93
Proteoma, 33
Proteómica, 3, 33, 465
Proteómicos, 740
Protohem, 122
Protón(es)
  a partir de la rotura de puentes salinos, 56
  aceptores de, 10, 63
  bombas de, 130
  donadores de, 10, 63
  fuerza motriz de, 130, 610
  hemoglobina transporta, 56
  transbordador de, 65
  transhidrogenasa translocadora de, 134
  transporte en el complejo III, 128
Protooncogenes, 723, 726
Protoporfirina en eritrocitos, 678
Protoporfirina III, 326
Protoporfirinógeno III, 326
Protoporfirinógeno oxidasa, 326
Protrombina, 714
  hacia trombina, 712
Protrombinasa, complejo de, 714
PRPP glutamil aminotransferasa, 350
Pruebas de detección de errores congénitos, 596
Pruebas de diagnóstico molecular, 3
Pruebas de estimulación con Synacthen, 599
Pruebas de función de órgano, 596
Pruebas de función hepática (LFT), 597
Pruebas de función renal, 596
Pruebas de función suprarrenal, 599
Pruebas de función tiroidea, 598
Pruebas de supresión con dexametasona, 599
Pseudouridina, 345
Psicosis de Korsakoff, 555
PTS1 y PTS2, 613
Puentes de sal, 8
Puentes transversales, 648, 649
Punto(s) de control, 95, 391
Punto(s) de inicio (levadura) o de restricción, 388
Punto(s) inicial de transcripción (TSS), 396
Purinas
  biosíntesis hepática de, 350
  catabolismo de, 354
  como compuestos heterocíclicos, 340
  en mononucleótidos, 350
  hacia ácido úrico, 354
  no esenciales en la dieta, 348
  propiedades químicas de las, 340
Puromicina, 426
Púrpura trombocitopénica inmunitaria, 698

Q

Q acepta electrones mediante los complejos I y II, 128
Q-citocromo *c* oxidorreductasa (complejo III), 127
Quenodesoxicolil-CoA, 273
Queratán sulfatos I y II, 634, 637
Queratinas, 666
Quilo, 255
Quilomicrones, 143, 148, 253, 254, 255
  catabolizados con rapidez, 257
  remanente de, 258
Química convencional, 67
Quimiocinas, 706
  estabilizadas por enlaces disulfuro, 702
Quimiotaxis, 701, 706
  mediada por receptores, 702
Quimocinas, 738
Quimotripsina, 64
  catálisis mediante, *65*
Quimotripsinógeno, 93
Quinurenina formilasa, 308
Quinureninasa, 308
Quitina, 157

R

Radiación ultravioleta (UV), 761
Radicales de oxígeno en el cuerpo, 566
Radicales libres, 219, 543, 564, 760
  anión superóxido, 124
  pueden dañar DNA, lípidos y proteínas, 564
  reacciones de, 564
Radicales, mecanismos de protección, 567
Radio de Stokes, 27
Radioinmunoensayo, 596
Rama citosólica, 608
Ramificación, punto de, 178
Rancidez, 219
Raquitismo, 553
Rayos γ, 724
Rayos ultravioleta, 724
Rayos X, 724
Reacción(es) alérgicas, 537, 541
Reacción(es) anaplerótica, 164
Reacción(es) Bi-Bi, 84
Reacción(es) catalizadas por enzima, 145
Reacción(es) cromosómica, 579
Reacción(es) de activación, 519
Reacción(es) de desplazamiento único, 84
Reacción(es) de doble desplazamiento, 84
Reacción(es) de Edman, 29
Reacción(es) de Maillard, 578
Reacción(es) de no equilibrio, 145
Reacción(es) de ping-pong, 84
Reacción(es) de recuperación, 350
Reacción(es) de transferencia de grupo, 63
Reacción(es) de transfusión, 694
Reacción(es) desequilibradas, 172
Reacción(es) en cadena de la polimerasa, 70
Reacción(es) en cadena de la polimerasa (PCR), 458
Reacción(es) en cadena de polimerasa (PCR), 378
Reacción(es) endergónica, 114
Reacción(es) espontáneas, 74
Reacción(es) exergónica, 114
Reacción(es) generadora de flujo, 145
Reacción(es) hidrolíticas, 756
Reacción(es) limitante de la velocidad, 89
Reacción(es) metabólicas y transferencia de grupo, 9
Reacción(es) químicas, 74
Reacción(es) químicas, estado de equilibrio de, 74
Reacción(es) secuenciales, 84
Reacción(es) termodinámicamente favorables, 117
Reactivo, concentración de, 76
Reactivo limitante, 76
Recambio de proteína, 89
Receptor(es), 481
  acoplados a proteína G, 521
  acoplados a proteína G (GPCR), 521
  basurero B1 clase B (SR-B1), 259
  como proteínas, 500
  de asialoglucoproteína, 616
  de factor de crecimiento de fibroblastos, 645
  de HDL con función doble en el metabolismo, 259
  de LDL, 258, 271, 616
  de membrana, 520
  de muerte, vía del, 733
  de SRP (SRP-R), 615
  de transferrina 1 (TfR1), 674
  de transferrina 2 (TfR2), 675
  de VLDL, 257
  específicos, 730
  galactosil, 493
  hormonales, 499
  reconocimiento y acoplamiento, 499
  X farnesoide (FXR), 274
Recién nacidos
  análisis de sangre de, 296
  metabolismo en, 596
Recombinación cromosómica, 379
Recombinación homóloga (HR), 389
Recombinasas, 452
Reconocimiento celular, 250
Reconocimiento y fijación (carga), 415
Recuento plaquetario, 721
Red de fibrina, 711
Red de transmisión de carga, 65
Red *trans*-Golgi (TGN), 608, 623
Redactores de código, 437
Redes de control complejas, 95
Redox, 119
  estado de, 226
  potencial de, 119
Reducción, 119
5α-reductasa, 505
Reductor y antioxidante intracelular, 586
Región(es) anticodón, 414
Región(es) bisagra, 530, 652
Región(es) codificadoras, 376
  de proteína del DNA, 376
  interrumpidas por secuencias interpuestas, 376
Región(es) constante, 683, 684
Región(es) de control de *locus* (LCR), 444
Región(es) de diversidad (*D*), 684
Región(es) de unión (*J*), 684
Región(es) determinantes de complementariedad (CDR) , 683
Región(es) hipervariables, 683
Región(es) marco, 683
Región(es) variable, 683, 684
Regulación alostérica, 90
Regulador negativo, 326, 431
Regulador positivo, 433
Relaciones cuantitativas entre estructura y actina, 107
Remo cargado, 489
Renina, 60
Reordenamiento de Amadori, 578
Reordenamiento de gen, 684
Reparación de errores de emparejamiento (MMR), 389
Reparación molecular, mecanismos de, 762
Reparación por escisión de bases (BER), 389
Reparación por escisión de nucleótido (NER), 389
Replicación, origen de la, 381
Replicación que muestra polaridad, 386
Replicadores, 381
Represión, 89
Represor λ cI, 435
Represor *lac*, 431
Represores, 401
  acción de, 440

Reproducción, 232
Reprogramación de enzimas metabólicas, 738
Residuos aminoacilo, 22
Residuos azúcar, 250
Residuos catalíticos, 66
Residuos conservados, 66
Residuos homólogos, 66
Residuos yodotironilo, 510
Respiración, 119
Respuesta a proteína no plegada (UPR), 618
Respuesta autoinmunitaria, 687
Respuesta inflamatoria, 528
Respuesta inflamatoria aguda, 700
Respuesta tipo C, 430
Retículo endoplasmático, 635
Retículo endoplasmático, plegamiento correcto, 576
Retículo endoplásmico, 144, 236, 425
Retículo sarcoplásmico, 653
Reticulocitos, 692
Retinaldehído, 547
Retinitis pigmentosa, 239
Retinol, 547
Retroalimentación
  inhibición por, 91
  mecanismos de, 717
  regulación por, 91
Retroposones, 377
Retrotranslocación, 619
Retrovirales, 455
Rho cinasa, 659
Rianodina, receptor de (RYR), 653
Riboflavina, 62, 120, 164, 556
  deficiencia de, 556
  deshidrogenasas enlazadas con, 121
  deshidrogenasas que dependen de la, 121
Ribomiopatías, 692
Ribonucleasas, 368
  pancreáticas, 61
Ribonucleósidos, 340
  difosfatos, reducción de, 352
Ribonucleótido reductasa, 352
Ribosa, 140, 152, 196
  5-fosfato cetoisomerasa, 198
  fase no oxidativa genera precurores de la, 198
  fosfato, 196
  puede sintetizarse en casi todos los tejidos, 200
Ribosilación de ADP, 92
Ribosomas, 71, 144
Ribozimas, 60, 363, 411
  artefactos del mundo del RNA, 71
  finales, 71
Ricina, 427
Riego sanguíneo inadecuado, 739
Rigor mortis, 652, 654
Riñones, 509
Ritmicidad intríseca, 656
RNA, 371
  alternativo como mecanismo de control, 448
  catalítica, molécula de, 71
  clases de, 364
  codificantes de proteína, 394
  como polinucleótido, 344
  dos clases principales, 394
  edición del, 410
  hipótesis del mundo del, 71
  modificación de modo extenso, 409
  moléculas de, 406
  naturaleza química del, 363
  pequeño, 367
  preparación por un tramo corto de, 383
  procesamiento de, 406
  que actúa como catalítico, 411
  reguladores no codificantes grandes y pequeños, 368
  ribosomales (rRNA), 394
  ribozimas como artefactos del mundo del, 71
  silenciadores (siRNA), 368, 394
  síntesis, procesamiento y modificación del, 394
  terminación de, 398
  transcripción de, 406
  transporte de, 406
  y proteína, establecimiento de perfil de, 465
RNA de transferencia (tRNA), 363, 365, 394
  para cada uno de los 20 aminoácidos, 415
  procesamiento a partir de precursores de mayor tamaño, 409
  procesamiento y modificación de manera extensa, 411
RNA mensajero (mRNA), 363, 365, 394, 413
  modificación en los extremos 5′ y 3′, 409
  regulación de la estabilidad de, 449
RNA no codificantes de proteína, 394
RNA no codificantes largos (lncRNA), 368, 394
RNA nucleares pequeños (snRNA), 364, 367, 394
RNA polimerasa, 395
  complejo central de la, 397
  dependiente de DNA, 395
  dependiente de DNA bacteriano, 397
  dependiente de DNA nuclear, 397
RNA ribosómico (rRNA), 363, 366
  procesamiento a partir de precursores de mayor tamaño, 409
RNA, síntesis de, 395
  como proceso cíclico, 398
RNA-Seq, 465
RNasa H, 387
Rodopsina, 547

S
S-acilación, 481
S-prenilación, 481
Sacarosa, 156
Sales biliares, 273
Salvamento, vías de, 353
Sangre
  coagulación de la, 232
  funciones de la, 669
Sarcoglucano, complejo de, 655
Sarcolema, 647
Sarcómero, 648
  como unidad funcional del músculo, 648
Sarcoplasma, 647
Sarcosina, 318
Scrapie, 36, 46
SDS-PAGE, 695
Secreción regulada, 608
Secuencia(s) Arg-Gli-Asp (RGD), 633
Secuencia(s) de consenso Kozak, 421
Secuencia(s) de direccionamiento peroxisomal-matriz, 613
Secuencia(s) de inserción interna, 616
Secuencia(s) de replicación autónoma (ARS), 381
Secuencia(s) iniciadora (Inr), 401
Secuencia(s) interpuestas, 406
Secuencia(s) repetidas de microsatélite, 377
Secuencia(s) repetidas entremezcladas cortas, 377
Secuencia(s) repetidas entremezcladas largas, 377
Secuencia(s) señal, 670
Secuencia(s) TATA (caja TATA), 399, 400
Secuencia(s) topogénicas, 618
Secuenciación
  de exoma, 99
  NGS, 465
Segundos mensajeros, 91, 500
  hormonales, 245
Selectinas, 579, 702
  en la inflamación y el direccionamiento de linfocitos, 579
Selenio, 122, 200, 261
Selenocisteína, 16, *18*, 200, 285
Senescencia replicativa, 765
Sensibilidad, 592
Señal(es) de exportación nuclear (NES), 612
Señal(es) de localización nuclear (NLS), 611
Señal(es) de suspensión o paro de la transferencia, 616
Señal(es) de terminación, 399, 414
Señal(es), generación de, 519
Señal(es) intracelulares, 520
Señal(es) para la terminación, 403
Señal(es) peptidasa, 615, 670
Señalización
  autocrina, 706
  celular, 216
  paracrina, 706
  transmembrana, 477, 494, 719, 720
Serina, 283, 300, 316
  proteasa, 65
Serina-arginina (SR), 407
Seudogenes, 380
Seudopolidistrofia de Hurler, 639
Seudouridina, 356
Sialidosis, 639
Sialoproteína ósea, 642
Signo y magnitud, 74
Silenciadores, 401
Simportador de Na^+-glucosa, 491
Simporte, 486
Sinaptobrevina, 623
Síndrome 5q, 692
Síndrome adrenogenital, 505
Síndrome carcinoide, 557
Síndrome coronario agudo, 698
Síndrome de Alport, 631
Síndrome de Bernard-Soulier, 698
Síndrome de Crigler-Najjar tipo I, 333
Síndrome de Crigler-Najjar tipo II, 333
Síndrome de dificultad respiratoria, 216, 245, 250
  del recién nacido, 250
Síndrome de Dubin-Johnson, 333
Síndrome de Ehlers-Danlos, 281, 630
Síndrome de estrés porcino, 654
Síndrome de exceso de carbohidratos, 264
Síndrome de Gilbert, 333
Síndrome de hiperornitinemia-hiperamonemia, 299
Síndrome de Hurler y de Hunter, 638
Síndrome de Kartagener, 665
Síndrome de Lesch-Nyhan, 354
Síndrome de Marfan, 632
Síndrome de Menkes, 47, 281
Síndrome de Reye, 356
Síndrome de Richner-Hanhart, 304
Síndrome de Stickler, 643
Síndrome de Williams-Beuren, 632
Síndrome de Zellweger, 614
Síndrome de Zellweger (cerebrohepatorrenal), 231
Síndrome hemolítico-urémico, 698

Síndrome HHH, 295
Síndrome MELAS, 135
Síndrome metabólico, 194
Síndrome premenstrual, 558
Sinvastatina, 275
SiRNA típicamente inhiben la expresión de gen, 368
Sirtuínas, 94
Sistema(s) ABO
  base bioquímica del, 696
  en la transfusión de sangre, 697
Sistema(s) acarreadores, 572
Sistema(s) biológicos isotérmicos, 113
Sistema(s) canalicular abierto, 698
Sistema(s) cardiovascular, 632
Sistema(s) central, glucosa en, 146
Sistema(s) de complemento, 685
Sistema(s) de difusión de intercambio, 133
Sistema(s) de suministro, 478
Sistema(s) de transporte facilitado, 331
Sistema(s) endocrino, diversidad del, 498, 500
Sistema(s) esquelético, 632
Sistema(s) extramitocondrial, 232
Sistema(s) inmunitario
  adaptativo, 685, 706
  disfunciones del, 686
  innato, 680, 685
Sistema(s) libres de células, 621
Sistema(s) microsómico, 236
Sistema(s) tubular T, 656
Sitio(s) A (sitio aminoacilo o aceptor), 422
Sitio(s) activo, 62
Sitio(s) alostérico, 90
Sitio(s) alostérico y catalítico, 91
Sitio(s) cos, 455
Sitio(s) de entrada ribosómico interno (IRES), 425
Sitio(s) de inicio de la transcripción alternativo, 448
Sitio(s) de poliadenilación alternativos, 449
Sitio(s) de restricción, 70
Sitio(s) de unión a antígeno, 683
Sitio(s) hipersensibles, 374
Sitio(s) P, 422
Sitio(s) promotor, 431
SNP (polimorfismo de un solo nucleótido), 101
  marca, 101
Sonicación leve, 482
Sorbitol
  en el cristalino, 205
  vía del, 205
Southern (DNA), 456
Southwestern, 457
Subunidades α y β, 615
Subunidades β de la hemoglobina, 54
Succinato deshidrogenasa, 121, 164
  reacción de, *82*
Succinato tiocinasa, 164
Succinato-Q reductasa (complejo II), 127
Succinil-CoA, 324
Succinil-CoA-acetoacetato CoA transferasa, 164 , 227
Succinil-CoA-sintetasa, 164
Sueño, 232
Sulfación, 586
Sulfatasa, 638
  deficiencia múltiple de, 251
Sulfatida, 218
Sulfato, 571, 574
  donante de, 586
Sulfo(galacto)-glicerolípidos, 250
Sulfogalactosilceramida, 250
Sulfonamida, 694
Sulfotransferasas, 636
Superfamilia de receptor nuclear, 529
Superficie apical, 491
Superhélice diestra, 628
Superhélice negativa, 362
Superóxido dismutasa (SOD), 124, 693, 704, 705
Supresores tumorales, 723
Supresores tumorales p53, 392
Surco mayor, 362, 431
Surco menor, 362
Surfactante, 216
  pulmonar, 245
  pulmonar, deficiencia de, 250
Sustancia A, 698
Sustancia B, 698
Sustancia de reacción lenta de anafilaxia (SRA-A), 242
Sustancia H, 697
Sustancia química, 724
Sustrato(s), 61, 131
  análogos de, 82
  ciclos de, 190
  coenzimas sirven como transbordadores, 62
  cofactores asociados con enzimas o, 62
  concentración de, 79
  de receptor de insulina (IRS), 526
  dos o más, 84
  fijo, 84
  inducen cambios conformacionales, 64
  molécula de, 123
  pares de, 134
  peróxido orgánico como, 122
  transbordadores de, 134
  unión cooperativa de, 81
  variable, 84
  y enzima, 487
Symporter, 172

T

t-PA recombinante, 718
t-SNARE complementarias, proteínas, 621
Tabaquismo, 274, 730
Talasemia(s), 58, 698
Talasemia(s) α, 58
Talasemia(s) β, 46, 58
Talina, 633
Tansporte activo, 486
Tasas de recambio de lípidos y proteínas, 624
Tau, 665
Tautomerismo, 340
tblastn, 103
tblastx, 103
Técnicas usadas en, 593
Tecnología de identificación de proteína, 33
Tecnología de microarreglo de alta densidad, 465
Tecnología genómica, 451
Tejido(s) adiposo, 212, 261
  pardo y termogénesis, 264
  y lipogénesis, 264
Tejido(s) conjuntivo, 627
Tejido(s) especializados en síntesis reductivas, 198
Tejido(s) extraneurales, 250
Tejido(s) nerviosos, 218
Tejido(s) periféricos, 505
Tejido(s) que funcionan en condiciones hipóxicas, 171
Tejido(s) y órgano, 142
Telomerasa, 374, 765
  actividad alta de, 732
  inhibidores de la, 741
Telómeros, 374, 765
  cortos, 732
Temperatura, 75, 77
  de fusión, 361
  de transición, 483
Tensión de oxígeno baja, 739
Teofilina, 263
Teoría cinética, 75
Teoría de desgaste y del envejecimiento, 756
Teoría de la coalición, 75
Teoría de la mutación somática del envejecimiento, 763
Teoría metabólica del envejecimiento, 764
Teoría mitocondrial del envejecimiento, 760
Teoría quimiosmótica, 130
  control respiratorio y acción de desacopladores, 132
  de la fosforilación oxidativa, *131*
Terapia anticánceer personalizada, 741
Terapia con chaperón químico, 251
Terapia de privación de sustrato, 251
Terapia de rehidratación por vía oral, 491
Terapia de restitución de enzima, 251
Terapia génica, 3, 251, 296, 455, 483, 741
  y biología de células madre, 464
Terminación en el reconocimiento de codón, 423
Terminación prematura, 417
Terminación, señales de, 398
Termodinámica
  bioquímica, 113
  leyes generales de la, 113
  segunda ley de la, 8
Termogénesis inducida por la dieta, 264, 542
Termogenina, 132, 264
Testosterona, 505
Tetraciclina (Tet), 426, 455
Tetrahidrofolato como acarreador de unidades, 559
Tetrapirroles, 323
Tetrayodotironina, 510
Tetrosas, 152
TFIID, 403
TGF-β, 632
Tiamina, 62, 555
  deficiencia de, que afecta el corazón, 555
  difosfato de, 172, 198, 555
  en la dieta, deficiencia de, 174
  estado nutricional y, 556
  insuficiencia cardiaca y edema, 555
Ticagrelor, 721
Tiempo de protrombina (PT), 721
Tiempo de sangrado de la piel, 721
Tiempo de sangrado/cierre, 721
Tiempo de trombina (TT), 721
Tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT), 721
Timidilato, 359
Timidina monofosfato (TMP), 559
Timo, 707
Tiocinasa, 224
Tioesterasa, 233
Tioforasa, 164
Tiolasa, 225, 227, 267
Tipo sanguíneo, 697
Tiras sumergibles de química seca, 596
Tiroglobulina, 510
Tiroides, hormona estimulante de la, 598

Tirosina, 285, 304, 317
aminotransferasa, 304
catecolaminas y hormonas tiroideas, 509
cinasa, 730, 740
hidroxilasa como limitante para biosíntesis, 509
Tirosinemia neonatal, 304
Tirosinemia tipo I, 304
Tirosinemia tipo II, 304
Tirosinosis, 304
Tiroxina (T_4), 510
Tocoferoles, 553
Tocotrienoles, 553
Tolbutamida, 231
Tonel, estructuras tipo, 609
Topoisomerasas, 362
Torrente arriba, 733
Toxicidad, 546
por oxígeno, 124
Toxina del cólera, 218, 250
Toxina diftérica, 426, 490
Traducción, 414
Tráfico bidireccional, 616
Tráfico de membrana, 216
Trafico de proteína intracelular, 620
Trampa de folato, 559
Trampa extracelular de neutrófilos (NET), 705
Trampa iónica, 33
Trancetolasa de eritrocitos, 556
Trans como señal epigenética, 438
Transaldolasa, 198
Transaminación, 141, 164, 290
Transaminasa, 165, 298, 299
Transbordador de creatina fosfato, 135
Transbordador de glicerofosfato, 134
Transbordador de protón, 65
Transbordador de sustrato, 134
Transbordador malato, 134
Transcetolasa, 198
Transcitosis, 623
Transcortina, 516
Transcripción, 419
de gen, mecanismos epigenéticos, 438
de genes eucarióticos, elementos del DNA, 439
dominios de, 443
factores de, 89
función de activadores y correguladores de la, 404
señales específicas que regulan la terminación, 403
Transcriptasa inversa, 364, 380, 387
Transcriptoma, información de, 465
Transcriptómica, 3
Transcrito primario (pri-miRNA), 396, 409
Transducción de señal, 484, 494, 518, 578
Transductor bioquímico, 647
Transductores de señal y activadores de transcripción, 528
Transfección, 443
Transferasas, 61
Transferencia de grupo, reacciones de, 63
Transferrina (Tf), 541, 668, 673, 674
ciclo de la, 675
deficiente en carbohidrato (CDT), 674
saturación de, 678
Transglutaminasa, 715
Transhidrogenasa
enlazada con energía, 134
translocadora de protón, 134
Transición análogos de estado de, 63
Transición del estado ordenado, 483
Transición, intermediario de estado de, 63
Transición mesenquimatosa epitelial (EMT), 737
Transiciones, 416
Translocación, 422, 610
complejos de, 610
cromosómica, 726
mecanismos especiales de, 611
postraduccional, 616
Translocón, 615
Transportador, 481
como proteínas específicas, 486
con casete A1 que unen ATP, 259
de anión orgánico multiespecífico, 331
de glucosa (GLUT1), 691
de intercambio, 133
de membrana, 127
de metal divalente 1, 673
GLUT 4, 262
transmembrana, 616
Transporte activo, 331, 485, 487
sistemas de, 490
Transporte anterógrado, 621
Transporte constitutivo, 608
Transporte primario, 487
Transporte retrógrado, 616, 621
Transporte secundario, 487
Transporte vesicular anterógrado, 618
Transporte vesicular retrógrado, 618
Transposición, 377
en la producción de genes procesados, 380
Transtiretina, 680
Transversiones, 416
Trastornos autoinmunitarios, 669
Trastornos congénitos de la glucosilación, 674
Trastornos del desarrollo cardiaco, 659
Trastornos hemorrágicos hereditarios, 717
Trastornos metabólicos, características generales de, 294
Trastornos plaquetarios, 698
Traumatismo e infección, respuesta a, 544
Treonina, 303
Triacilglicerol(es), 141, 215, 254, 255
biosíntesis de, 246
de quilomicrones, 257
en el cuerpo, 261
formados mediante acilación de triosa fosfatos, 246
hidrólisis en el catabolismo de, 246
produce hígado graso, 260
sérico, reducción de, 275
síntesis de, 144
Tríada catalítica, 66
Tricarboxilato, transportador de, 237
Triglicéridos, 215, 254
Trimetoprim, 559
Triocinasa, 202
Triosas, 152
Tripeptidasas, 539
Triple hélice, estructura de, 627
Tripsina, 650
Triptófano, 306, 316
deficiencia de, 557
dioxigenasa, 306
pirrolasa, 308
L-triptófano dioxigenasa, 123
Trisquelión, 493
Triyodotirosina (T_3), 510
Trombastenia de Glanzmann, 689, 698
Trombina, 714, 715, 720
concentraciones circulantes de, 717
inhibidores de, 717
Trombo blanco, 712
Trombo rojo, 712
Trombocitopenia, 689, 698
aloinmunitaria neonatal, 698
Trombólisis, 721
Trombomodulina, 717
Trombopoyetina, 690
Trombosis, 711
e hipertensión, 560
Tromboxanos (TX), 213, 239
Tromboxanos (TX) A_2, 720
Tropocolágeno, 630
Tropoelastina, 631
Tropomiosina, 652, 653
en filamentos delgados, 648
Troponina, 69, 654
C (TpC), 653
complejo de, 652
en filamentos delgados, 648
I (TpI), 652, 653
sistema de, 653, 659
T (TpT), 652
Tubo neural, defectos del, 560
α y β-tubulinas, 665
γ-tubulina, 665
Tumores benignos, 722
Tumores malignos, 722

U

Ubicación transmembrana, 481
Ubiquinona, 127, 219, 269
Ubiquitina
degradación dependiente de, 288
en la degradación de proteína, 620
ligasas, 619
Ubiquitinación, 90
UDP-glucosa, 176
UDPG1c pirofosforilasa, 176
UDPGal 4-epimerasa, 203
UDPGlc deshidrogenasa, 200
UDPGlc pirofosforilasa, 200
Úlceras pépticas, 581, 599
Umbral renal, 193
Unidad de transcripción, 396
Unidades isoprenoides, formación de, 267
Unidades Svedberg, 367
Unión(es) a ligando competitivas, 595
Unión(es) adherentes, 484
Unión(es) cooperativa, 55
Unión(es) de aminoacil-tRNA al sitio A, 422
Unión(es) de extremo no homólogo (NHEJ), 389
Unión(es) intercelulares comunicantes, 477, 484, 494
Unión(es) intercelulares herméticas, 484
Uniportador de glucosa, 491
Uniporte, 486
UniProtKB, 101
Uracilo, desoxirribonucleósidos de, 352
Urea, 141, 292, 597
biosíntesis de, 290, 293
defectos de la biosíntesis de la, 296
deficiencia de enzima del ciclo de la, 356
enzima marcapasos del ciclo de la, 294
trastornos metabólicos, 294
Ureotélicos, 290
Uricotélicas, 290

Uridil transferasa, 205
Uridina difosfato glucosa, 176
Urobilinas, 332
Urobilinógeno, 332, 333, 334
  ciclo enterohepático del, 332
Urocinasa, 718
Uroporfirinógeno descarboxilasa, 326
Uroporfirinógeno I, 326
Uroporfirinógeno III, 326
Uroporfirinógeno III sintasa, 326, 329

V
v-SNARE, proteínas, 621
Vaina de mielina, 216
Validez de los resultados de laboratorio, 591
Valina, 285
Valinomicina, 134, 489
Valor predictivo de una prueba con resultados negativos, 593
Valor predictivo de una prueba con resultados positivos, 593
Valoración tipo sándwich, 596
Valoraciones de reacciones catalizadas por enzima, 78
Valoraciones enzimáticas, 66
Valores espectrofotométricos, 67
Variación del número de copias (CNV), 731
Variación diurna, 270
Variaciones de especie, 577
Variaciones de gen que causan enfermedad, 460
Variaciones del número de copias (CNV), 460
Variaciones normales de gen, 460
Vasodilatadores, 647
Vasopresina, 263
Vectores basados en P1 de bacteriófago de *E. coli*, 455
Vectores de clonación de virus de mamífero, 455
Vectores de expresión, 455
Vectores virales, 455
Velocidad inicial, 78
Velocidad, reacción limitante de la, 89
Vena porta hepática, 190
Vesículas, 492
  cubiertas con COPI, 618
  cubiertas con proteína de cubierta II, 618
  de transporte, 608, 620, 621
  endocíticas y exocíticas, 665
  extracelulares, 494
  formación de, 666
  lipídicas, 624
  secretoras, 608
  sinápticas, 623
Vía(s) alternativa, 686
Vía(s) anabólicas, 139
Vía(s) anfibólicas, 139
Vía(s) catabólicas, 139
Vía(s) cotraduccional, 614
Vía(s) extrínseca, 712
Vía(s) intrínseca, 712
Vía(s) lisogénica, 433
Vía(s) lítica, 433
Vía(s) metabólica completa, 89
Vía(s) metabólicas
  nivel de tejido y órgano, 141
  nivel subcelular, 141
  y diferentes niveles de organización, 141
Vía(s) secretora, 608
Vibrio cholerae, 87
Vida media ($t_{1/2}$), 288, 671
  más prolongada, 333
Vigésimo primer aminoácido, 16, 285
Vimentinas, 666
Vinblastina, 665
Vinculina, 633
Virales asociados con adenovirus (AAV), 455
Virus, 493
  de bacterias, 455
  de Epstein-Barr, 700
  de la gripe aviar, 581
  de la inmunodeficiencia humana (HIV), 669
  de la inmunodeficiencia humana tipo I (HIV-I), 581
  DNA, 726
  oncolíticos, 741
  tumorales, 725, 727
Viscosidad, 574
Visión, vitamina A con función en la, 547
Vitamina, 3, 546
  B, coenzimas, cofactores y grupos prostéticos, 62
  ciclo del ácido cítrico, 164
  digestión y absorción de, 541
  diversa, funciones metabólicas, 547
  grupo dispar de compuestos, 547
  hidrosoluble, 555
  liposoluble, 212, 547
Vitamina A
  actividad de, 547
  deficiencia de, 551
  exceso tóxico de, 551
  función en la visión, 547
Vitamina B_1, 164
  en el metabolismo de carbohidratos, 555
Vitamina B_2, 205
  en el metabolismo que genera energía, 556
Vitamina B_6, 557
  deficiencia rara de, 557
  en exceso suscita neuropatía sensitiva, 558
  evaluación de transaminasas de eritrocito, 557
  varias funciones en el metabolismo, 557
Vitamina B_{12}
  deficiencia de, ocasiona anemia perniciosa, 559
  dos proteínas de unión en la absorción de, 558
  en alimentos de origen animal, 558
  enzimas dependientes de, 558
Vitamina C, 541, 561
  beneficios por la ingestión más alta de, 562
  coenzima para dos grupos de hidroxilasas, 561
  escorbuto por deficiencia de, 562
Vitamina D, 218, 219, 547
  absorción de calcio depende de la, 541
  como hormona, 551
  deficiencia en niños y adultos, 553
  homeostasis del calcio y, 552
  ingesta más alta beneficiosa, 553
  metabolismo regulado de la, 552
  metabolizada en el metabolito activo, hígado y riñón, 552
  proteína de unión a, 508
  que se sintetiza en la piel, 552
  tóxica en exceso, 553
Vitamina E, 261
  antioxidante liposoluble en membranas celulares, 553
  deficiencia de, 553
  no tiene función metabólica definida con precisión, 553
Vitamina K, 717
  coenzima para la carboxilación de glutamato, 554
  síntesis de hueso y otras proteínas, 555
  síntesis de proteínas de coagulación, 553
VLDL
  en el plasma, 255
  remanentes de, 258
  secreción hepática de, 259
$V_{máx}$
  determinación de, 79
  efectos alostéricos en, 91
Voltaje, canales activados por, 489
Vorinostat, 735

W
Warfarina, 554, 585, 717
Western (proteína), 456

X
Xantina oxidasa, 61, 355
Xenobióticos, 119
  actividades de enzimas metabolizadoras de, 587
  edad, sexo y otros factores, 587
  efectos farmacológicos, tóxicos, inmunológicos, 587
  efectos tóxicos de, 587
  enfermedad autoinmunitaria, 587
  excreción en la fase 2 de su metabolismo, 586
  mecanismos de reparación de DNA, 587
  metabolismo de, 583
Xeroftalmía, 551
Xilosa, 635
L-xilulosa, 205

Y
Yersinia pestis, 87
Yodo, deficiencia de, 510
Yoduro, metabolismo de, 510

Z
Zimógenos, 92, 539, 668
Zona pelúcida (ZP), 579
Zonas de oclusión, 484
Zwitteriones, 20

Siglario

A

A1 Anemia de inflamación / Anemia of inflammation
AAV Virales asociados con adenovirus / Adenovirus-associated viral
ABCA1 Transportadores con casete A1 que unen ATP / ATP-binding cassette transporters A1
ACAT Acil-CoA:colesterol aciltransferasa / Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase
ACE Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina / Angiotensin-converting enzyme inhibitors
ACP Proteína transportadora de acilo / Acyl carrier protein
ACTH Hormona adrenocorticotrópica / Adrenocorticotropic hormone
Ad Adenovirales / Adenoviral
AD Dominios de activación / Activation domains
ADH Hormona antidiurética / Antidiuretic hormone
ADP Difosfato de adenosina / Adenosine diphosphate
AGE Productos terminales de glucación avanzada / Advanced glycation end-products
AHSP Proteína estabilizadora de hemoglobina α / α-hemoglobin-stabilizing protein
AID Citidina desaminasa inducida por activación / Activation-induced cytidine deaminase
AKAP Proteínas fijadoras de cinasa A / A kinase anchoring proteins
ALA Ácido α-linolénico / α-linolenic acid
ALD Hepatopatía alcohólica / Alcoholic liver disease
ALT Alanina aminotransferasa / Alanine aminotransferase
AMP Monofosfato de adenosina / Adenosine monophosphate
AMPK Proteína cinasa activada por AMP / AMP-activated protein kinase
AMPKK AMPK cinasa / AMPK kinase
ANF Factor natriurético auricular / Atrial natriuretic factor
APC Proteína C activada / Activated protein C
aPTT o PTT Tiempo de tromboplastina parcial activada / Activated partial thromboplastin time
ARF-1 Factor de ribosilación de ADP-1 / ADP-ribosylation factor-1
ARS Secuencia de replicación autónoma / Autonomously replicating sequences
AST Aspartato aminotransferasa / Aspartate aminotransferase
ATCase Aspartato transcarbamoilasa / Aspartate transcarbamoylase
ATM Ataxia telaniectasia mutada / Ataxia telangiectasia mutated
ATP Trifosfato de adenosina / Adenosine triphosphate

B

BAC Cromosoma artificial bacteriano / Bacterial artificial chromosome
BAPN β–aminopropionitrilo / β-aminopropionitrile
BER Reparación por escisión de bases / Base excision repair
BHA Hidroxianisol butilado / Butylated hydroxyanisole
bHLH Hélice-asa-hélice básica / Basic helix-loop-helix
BHT Hidroxitolueno butilado / Butylated hydroxytoluene
BiP Proteína de unión a inmunoglobulina / Binding immunoglobulin protein
BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)
BMP Proteínas morfogenéticas óseas / Bone morphogenic proteins
BMR Índice metabólico basal / Basal metabolic rate
BPG 2,3-difosfoglicerato / 2,3-bisphosphoglycerate
BPH Hiperplasia prostática benigna / Bening prostatic hyperplasia

C

CAD DNasa activada por caspasa / Caspase-activated DNase
CADD Diseño de fármacos auxiliado por computadora / Computer-Aided Drug Design
CAM Moléculas de adhesión celular / Cell adhesión molecules
cAMP Monofosfato de adenosina cíclico / Cyclic AMP
CAP Proteína activadora de gen que codifica para catabolito / Catabolite gene activator protein
CBG Globulina de unión a corticosteroide / Corticosteroid-binding globulin
CBP Proteína de unión a CREB / CREB-binding protein
CDK Cinasas dependientes de ciclina / Cyclin-dependent kinases
CDK Proteína cinasas dependientes de ciclina / Cyclin-dependent protein kinases
cDNA DNA complementario / Complementary DNA
CDR Regiones determinantes de complementariedad / Complementarity-determining regions
CDT Transferrina deficiente en carbohidrato / Carbohydrate-deficient transferrin
CEA Antígeno carcinoembrionario / Carcinoembryonic antigen
CF Fibrosis quística / Cystic fibrosis
CFTR Proteína reguladora transmembrana de fibrosis quística / Cystic fibrosis transmembrane regulator protein
CG Gonadotropina coriónica / Chorionic gonadotropin
CICR Liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} / Ca^{2+}-induced Ca^{2+} release
CK Creatina cinasa / Creatine kinase
CKI potente inhibidor de la CDK-ciclina / Potent CDK-cyclin inhibitor
CLIP Péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina / Corticotropine like intermediate lobe peptide
CMC Complejo modificador de cromatina / Chromatin modifying complex
CMD Distrofias musculares congénitas / Congenital muscular dystrophies
CML Leucemia mielocítica crónica / Chronic myelocytic leukemia
CMP Citidina monofosfato / Cytidine monophosphate
CNV Variaciones del número de copias / Copy number variations
COX Ciclooxigenasa / Ciclooxigenase
CPS Carbamoil fosfato sintasa / Carbamoyl phosphate synthase
CPT-I Carnitina palmitoiltransferasa-I / Carnitine palmitoyltransferase-I
CREB Proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico / Cyclic AMP response element binding protein
CRP Proteína C reactiva / C-reactive protein
CRP Proteína reguladora de catabolito / Catabolite regulatory protein
cryo-EM Microscopio por crioelectrones / Cryo-electron microscopy
CTD Dominio C terminal / C-terminal domain
CTD Dominio de repetición carboxilo terminal / Carboxy terminal domain
CTP Trifosfato de citidina / Cytidine triphosphate
ChIP Inmunoprecipitación de cromatina / Chromatin immunoprecipitation

D

DAG Diacilglicarol / Diacylglicerol
DBD Dominio de unión a DNA / DNA-binding domains
dbGAP (Database of Genotype and Phenotype)
DBH Dopamina β-hidroxilasa / Dopamine β-hydroxylase
DCA Dicloroacetato / Dichloroacetate
Dcytb Citocromo duodenal b / Duodenal cytochrome b
DEAE Dietilaminoetil / Diethylaminoethyl
DGAT Diacilglicerol aciltransferasa / Diacylglycerol acyltransferase
DHA Ácido docosahexaenoico / Docosahexaenoic acid
DHEA Dehidroepiandrosterona / Dehydroepiandrosterone
DHPR Receptor de dihidropiridina / Dihydropyridine receptor
DHT Dihidrotestosterona / Dihydrotestosterone

DIT Diyodotirosina / Diiodotyrosine
DMT1 Transportador de metal divalente 1 / Divalent metal transporter 1
DNA Ácido desoxirribonucleico / Deoxyribonucleic acid
dNDPs Desoxirribonucleósido difosfatos / Deoxyribonucleoside diphosphates
DNMT DNA metiltransferasa / DNA methyltransferase
DOC desoxicorticosterona / 11-deoxycorticosterone
DOPA Dihidroxifenilalanina / Dihydroxyphenylalanine
DPE Promotor torrente abajo / Downstream promoter element
DPG Difosfoglicerato / Diphosphoglycerate
DSBs Roturas bicatenarias de DNA / Double-strand breaks
dsDNA DNA bicatenario / Double-stranded DNA
dsDNA Moléculas de DNA bicatenario muy largos / Double-stranded DNA molecules
DTPA Dietilentriaminopentaacetato / Diethylenetriaminepentaacetate
DUE Elemento de desenrollado de DNA / DNA unwinding element
dUMP Desoxiuridina monofosfato / Deoxyuridine monophosphate

E

ECF Líquido extracelular / Extracellular fluid
ECM Matriz extracelular / Extracellular matrix
EDRF Factor relajante derivado del endotelio / Endothelium-derived relaxing factor
EDTA Etilendiaminotetraacetato / Ethylenediaminetetraacetate
EF Factores de alargamiento / Elongation factors
EGF Factor de crecimiento epidérmico / Epidermal growth factor
eIF Factores de inicio eucariótico / Eukaryotic initiation factors
ELISA Análisis inmunoabsorbente ligado a enzima / Enzyme-linked immunosorbent assays
ELISA Ensayo de inmunosorbente ligada a enzima / Enzyme-linked immunosorbent assay
EM Microscopio electrónico / Electron microscopy
EMT Transición mesenquimatosa epitelial / Epithelial-to-mesenchymal transition
ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements) Project
eNOS Óxido nítrico sintasa endotelial / Endothelial nitric oxide synthase
enz Enzima / Enzyme
EPA Ácido eicosapentaenoico / Eicosapentaenoic acid
EPO Eritropoyetina / Erythropoietin
ER Retículo endoplásmico / Endoplasmic reticulum
ERAD Degradación asociada con el retículo endoplasmático / Endoplasmic reticulum-associated degradation
ES Enzima sustrato / Enzyme-substrate
ETF Flavoproteína transferidora de electrones / Electron-transferring flavoprotein

F

FAB Bombardeo atómico rápido / Fast atom bombardment
FACIT Colágenos asociados con fibrillas con triples hélices interrumpidas / Fibril-associated collagens with interrupted triple helices
FAD Flavina adenina dinucleótido / Flavin adenine dinucleotide
FGFR3 Receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 3 / Fibroblast growth factor receptor 3
FH Hipercolesterolemia familiar / Familial hypercholesterolemia
FISH Hibridación *in situ* fluorescente / Fluorescence *in situ* hybridization
FMN Flavina mononucleótido / Flavin mononucleotide
FPA Fibrinopéptido A / Fibrinopeptide A
FPB Fibrinopéptido B / Fibrinopeptide B
FSH Hormona estimulante del folículo / Follicle-stimulating hormone
FXR Receptor X farnesoide / Farnesoid X receptor

G

GABA Ácido γ-aminobutírico / γ-aminobutyric acid
GABA γ-aminobutirato / γ-aminobutyrate
GalCer Galactosilceramida / Galactosylceramide
GalNAc Ácido *N*-acetilgalactosamina / N-acetylgalactosamine
GAP Proteínas aceleradoras de GTPasa / GTPase-accelerating proteins
GDF15 Factor de diferenciación de crecimiento 15 / Growth differentiation factor 15
GDH L-glutamato deshidrogenasa hepática / Hepatic L-glutamate dehydrogenase
GDP Guanosina difosfato / Guanosine diphosphate
GEF Factores de intercambio de nucleótido guanina / Guanine nucleotide exchange factors
GenBank Base de datos de secuencia genética / Genetic sequence database
GFR Tasa de filtración glomerular / Glomerular filtration rate
GGT γ-glutamiltransferasa / γ-glutamyltransferase
GH Hormona de crecimiento / Growth hormone
GlcCer Glucosilceramida / Glucosylceramide
GLS Glucoesfingolípidos / Glycosphingolipids
GLUT Transportadores de glucosa / Glusose transporters
GPCR Receptores acoplados a proteína G / G protein-coupled receptors
GPI Glicofosfatidilinositol / Glycophosphatidylinositol
GPI-ancladas Glucosilfosfatidilinositol-ancladas / Glycosylphosphatidylinositol-anchored
GRASP diagrams Diagramas GRASP / Program Graphical Representation and Analysis of Surface Properties
GRE Elemento de respuesta a glucocorticoide / Glucocorticoid response element
GST Sustrato de la glutatión Stransferasa / Glutathione S-transferase

H

H_3O^+ Ion hidronio / Hydronium ion
HapMap Mapa de haplotipo / Haplotype Map Project
HAT Histona acetiltransferasa / Histone acetyltransferase
HbS Hemoglobina S / Hemoglobin S
HDAC Histona des-acetilasa / Histone deacetylases
HDL Lipoproteínas de alta densidad / High density lipoproteins
HFS Jarabes de alta fructosa / High-fructose syrups
HGMD (Human Gene Mutation Database)
HGP (Human Genome Project)
HIF-1 Factor inducible por hipoxia-1 / Hypoxia-inducible factor-1
His F8 Histidina F8 / Histidine F8
HIV Virus de inmunodeficiencia humana / Human immunodeficiency virus
HIV-1 Virus de la inmunodeficiencia humana tipo I / Human immunodeficiency virus type I
HMG-CoA 3-hidroxi-3-metilglutaril-coA / 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA
HMM Meromiosina pesada / Heavy meromyiosin
HPLC Cromatografía líquida de alta presión / High-pressure liquid chromatography
HR Recombinación homóloga / Homologous recombination
HRE Elemento de respuesta a hormona / Hormone response element
HTS Investigación de alta capacidad de procesamiento / High-throughput screening
HvAP Canal de ion activado por voltaje / Voltage-gated ion channel

I

IAP Inhibidores de la apoptosis / Inhibitors of apoptosis
ICF Líquido intracelular / Intracellular fluid
IDDM Diabetes mellitus insulinodependiente / Insulin-dependent diabetes mellitus
IDL Lipoproteínas de densidad intermedia / Intermediate density lipoprotein
IEF Enfoque isoeléctrico / Isoelectric Focusing
IFN Interferones / Interferons
IGF-I Factor de crecimiento parecido a la insulina I / Insulin-like growth factor
IMP Inosina momofosfato / Inosine monophosphate
Inr Secuencia iniciadora / Initiator sequence
IP_3 Inositol 1,4,5-trifosfato / Inositol 1,4,5-triphosphate
iPSC Células madre pluripotenciales inducidas / Induced pluripotent stem cells
IPTG Isopropiltiogalactósido / Isopropylthiogalactoside
IRDS Síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido / Infant respiratory distress
IRE Elementos de respuesta al hierro / Iron response elements
IREG1 Proteína regulada por hierro 1 / Iron-regulated protein 1
IRES Sitio de entrada ribosómico interno / Internal ribosomal entry site
IRF Factor regulador de interferón / Interferon regulatory factor
IRS Sustratos de receptor de insulina / Insulin receptor substrates
IUB (International Union of Biochemistry)

K

K*cat* Constante catalítica / Catalytic constant
kd Constante de disociación / Dissociation constant
K_{eq} Constante de equilibrio / Equilibrium constant
K_m Constante de Michaelis / Michaelis constant

L

LBD Dominio de unión a ligando / Ligand-binding domain
LCAT Lecitina:colesterol aciltransferasa / Lecithin:cholesterol acyltransferase
LCR Regiones de control de *locus* / Locus control regions
LDH Lactato deshidrogenasa / Lactate dehydrogenase

LDL Lipoproteínas de baja densidad / Low density lipoproteins
LFT Pruebas de función hepática / Liver function tests
LH Hormona luteinizante / Luteinizing hormone
LHON Neuropatía óptica hereditaria de Leber / Leber hereditary optic neuropathy
LINE Secuencias repetidas entremezcladas largas / Long interspersed repeat sequences
LMM Meromiosina ligera / Light meromyosin
LMWH Heparinas de bajo peso molecular / Low-molecular-weight heparins
lncRNA RNA no codificantes largos / Long Noncoding RNAs
LT Leucotrienos / Leucotrienes
LX Lipoxinas / Lipoxins

M

mAb Anticuerpos monoclonales / Monoclonal antibodies
MAC Complejo de ataque de membrana / Membrane attack complex
MAGP Proteínas asociadas a microfibrillas / Microfibril-associated proteins
MALDI Desorción e ionización láser asistida por matriz / Matrix-assisted laser desorption and ionization
MAP Proteínas relacionadas con microtúbulos / Microtubule-associated proteins
MAPK Proteína activada por mitógeno cinasa / Activates the mitogen-activated protein kinase
MAT Metionina adenosiltransferasa / Methionine adenosyltransferase
MBL Lectina de unión a manosa / Mannose-binding lectin
MBP Proteína de unión a manano / Mannan-binding protein
MDR-1 Proteína de resistencia a múltiples fármacos-1 / Multidrug resistance-1 protein
MELAS Mitencefalopatía, acidosis láctica y apoplejía mitocondriales / Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke
MEOS Oxidante de etanol microsómico / Microsomal ethanol oxidizing system
MET Equivalente metabólico de la tarea / Metabolic equivalent of the task
met-tRNAi Iniciador met-RNA / Initiator methionyl-tRNA
MH Hipertermia maligna / Malignant Hyperthermia
MHC Complejo principal de histocompatibilidad / Major histocompatability complexes
MI Infarto del miocardio / Myocardial infarction
MIM Mapas de interacción molecular / Molecular Interaction Maps
MIPP Múltiple inositol polifosfato fosfatasa / Multiple inositol polyphosphate phosphatase
miRNA Micro-RNA / Micro-RNAs
MIT Monoyodotirosina / Monoiodotyrosine
MMR Reparación de errores de emparejamiento / Mismatch repair
MOAT Transportador de anión orgánico multiespecífico / Multiespecific organic anion transporter
MP Matriz metaloproteinasas / Matrix metalloproteinases
MPP Proteasa procesadora de matriz / Matrix-processing protease
mRNP Partículas de ribonucleoproteínas / Ribonucleoproteins particles
MS Espectrometría de masa / Mass spectrometry
MSH Hormona estimulante de los melanocitos α y β / α- and β-melanocyte-stimulating hormones
MSUD Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce / Maple syrup urine disease
MTP Proteína de transferencia de triglicérido microsomal / Microsomal triglyceride transfer protein
MudPIT Tecnología de identificación de proteína multidimensional / Multidimensional protein identification technology

N

NAD+ Nicotinamida adenina dinucleótido / Nicotinamide adenine dinucleotide
$NADP^+$ Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato / Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NAFLD Enfermedad de hígado graso no alcohólico / Nonalcoholic fatty liver disease
NAGS N-acetilglutamato sintasa / N-acetylglutamate synthase
NASH Esteatohepatitis no alcohólica / Nonalcoholic steatohepatitis
NCBI (National Center for Biotechnology Information)
NDP Nucleósido difosfato cinasa / Nucleoside diphosphate kinases
NER Reparación por escisión de nucleótido / Nucleotide excision repair
NES Señales de esportación nuclear / Nuclear export signals
NET Trampas exrtacelulares de neutrófilos / Neutrophil extracellular traps
NeuAc Ácido acetilneuramínico / Neuraminic acid
NeuAc Ácido *N*-acetilneuramínico / *N*-acetylneuraminic acid
NFκB Factor nuclear κ-B / Nuclear factor kappa-B
NHEJ Unión de extremo no homólogo / Nonhomologous end-joining
NIDDM Diabetes mellitus no insulinodependiente / Non-insulin-dependent diabetes
NIH (National Institutes of Health)
NLS Señal de localización nuclear / Nuclear localization signal
NMP Nucleósido monofosfato cinasa / Nucleoside monophosphate kinases
NMR Espectroscopia con resonancia magnética nuclear / Nuclear magnetic resonance spectroscopy
NO Óxido nítrico / Nitric oxide
NPC Complejos de poro nuclear / Nuclear pore complexes
NSAID Antiinflamatorios no esteroideos / Nonsteroidal anti-inflammatory drugs

O

β-ODAP Ácido β-diaminopropiónico / Diaminopropionic acid
OH^- Ion hidróxido / Hydroxide ion
OMIM Online Mendelian Inheritance in Man
ORC Complejo de reconocimiento de origen / Origin recognition complex
ORE Elemento de replicación de origen / Origin replication element

P

PAC Vectores basados en P1 de bacteriófago de *E. coli* / *E. coli* bacteriophague P1-based vectors
PAF Factor activador de plaquetas / Platelet-activating factor
PAGE Electroforesis en gel de poliacrilamida / Polyacrylamide gel electrophoresis
PAL Nivel de actividad física / Physical activity level
PAP Fosfatidato fosfatasa / Phosphatidate phosphatase
PAPS Adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato / Adenosine 3′-phosphate-5′-phosphosulfate
PAR Proporción de actividad física / Physical activity ratio
PAR Receptor activado por proteasa / Protease-activated receptor
PARP Poli ADP ribosa polimerasa / Poly ADP ribose polymerase
PCB Bifenilos policlorados / Polychlorinated biphenyls
PCR Reacción en cadena de polimerasa / Polymerase chain reaction
PCSK9 Proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 / Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9
PDB (Protein Database)
PDH Piruvato deshidrogenasa / Pyruvate dehydrogenase
PDI Proteína disulfuro isomerasa / Protein disulfide isomerase
PDK1 Cinasa dependiente de fosfoinositida-1 / Phosphoinositide-dependent kinase-1
PG Prostaglandinas / Prostaglandins
PGI Prostaciclinas / Prostacyclins
PGI_2 Prostaciclina / Prostacyclin
P_i Fosfato inorgánico / Inorganic phosphate
PIC Complejo de preinicio / Preinitiation complex
PiP_2 Fosfatidilinositol 4,5-difosfato / Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
PKA Proteína cinasa A / Protein kinase A
PKC Proteína cinasa C / Protein kinase C
PKU Fenilcetonuria / Phenylketonuria
PLCβ Fosfolipasa Cβ / Phospholipase Cβ
PLP Fosfato de piridoxal / Pyridoxal phosphate
PNMT Feniletanolamina-*N*-metiltransferasa / Phenylethanolamine-*N*-Methyltransferase
POMC Pro-opiomelanocortina / Pro-opiomelanocortina
PPI Peptidil prolil isomerasa / Peptidyl prolyl isomerase
PPi Pirofosfato inorgánico / Inorganic pyrophosphate
PP_i Pirofosfato / Pyrophosphate
pre-mRNA Moléculas precursoras de mRNA / mRNA precursor molecules
PrP Proteína relacionada con prión / Prion-related protein
PRPP 5-fosforribosil 5-pirofosfato / 5-phosphoribosyl 1-pyrophosphate
PSA Antígeno específico para próstata / Prostate specific antigen
PT Tiempo de protrombina / Prothrombin time
PTH Feniltiohidantoína / Phenylthiohydantoin
PTH Hormona paratiroidea / Parathyroid hormone
PTM Modificaciones postraduccionales / Posttranslational modifications
PTS Secuencias de direccionamiento peroxisomal-matriz / Peroxisomal-matrix targeting sequences

Q

Q_{10} Coeficiente de temperatura / Temperature coefficient
QSAR Relaciones cuantitativas entre estructura y actividad / Quantitative structure-activity relationships

R

RAR Receptores de ácido retinoico / Retinoic acid receptors
Rb Proteína de retinoblastoma / Retinoblastoma protein
RFLP Polimorfismos de longitud de fragmento de restricción / Restriction fragment length polymorphisms
RISC Complejo silenciador inducido por RNA / RNA-induced silencing complex
RNA Ácido ribonucleico / Ribonucleic acid
RNP Partículas de ribonucleoproteínas / Ribonucleoprotein particles
ROS Especies reactivas de oxígeno / Reactive oxygen species
RPA Proteína de replicación A / Replication protein A
RQ Cociente respiratorio / Respiratory quotient
rRNA RNA ribosomal / Ribosomal RNA
RXR Receptor X retinoide / Retinoid X receptor
RYR Receptor de rianodina / Ryanodine receptor

S

SAA Amiloide sérico A / Serum amyloid A
SDS Dodecil sulfato de sodio / Sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE Dodecil sulfato de sodio-electroforesis en gel de poliacrilamida / Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis
SHBG Globulina de unión a hormona sexual / Sex-hormone-binding globulin
Síndrome HHH hiperornitinemia, hiperamonemia y síndrome de homocitrulinemia / HHH syndrome
SINEs Secuencias repetidas entremezcladas cortas / Shorth interspersed repeat sequences
siRNA RNA silenciadores / Silencing RNAs
SNP Polimorfismos de un solo nucleótido / Single Nucleotide Polymorphisms
snRNA RNA nuclear pequeño / Small nuclear RNA
SOD Superóxido dismutasa / Superoxide dismutase
SR-B1 Receptor basurero B1 clase B / Class B scavenger receptor B1
SREBP Proteína de unión a elemento regulador esterol / Sterol regulatory element-binding protein
SRP Partícula de reconocimiento de señal / Signal recognition particle
SRS-A Sustancia de reacción lenta de anafilaxia / Slow-reacting substance of anaphylaxis
SSBs Proteínas de unión a DNA monocatenario / Single-stranded DNA-binding proteins
ssDNA DNA monocatenario / Single-stranded DNA
StAR Proteína reguladora aguda esteroidogénica / Steroidogenic acute regulatory protein
sTfR Proteína receptora de transferrina soluble / Soluble Transferrin receptor protein

T

t-PA Activador de plasminógeno hístico / Tissue plasminogen activator
T_3 Triyodotironina / Triiodothyronine
T_4 Tetrayodotironina / Tetraiodothyronine
TAF Factores relacionados con TBP / TBP-associated factors
TAFIa Inhibidor de fibrinólisis activable por trombina activada / Activated thrombin activatable fibrinolysis inhibitor
TBG Globulina de unión a tiroxina / Thyroxine-binding globulin
TBP Proteína de unión a TATA / TATA-binding protein
TCA Ácido tricarboxílico / Tricarboxylic acid
TEBG Globulina de unión a testosterona-estrógeno / Testosterone estrogen-binding globulin
TF Factor tisular / Tissue factor
TFPI Inhibidor de la vía del factor hístico / Tissue factor pathway inhibitor
TfR1 Receptor de transferrina 1 / Transferrin receptor 1
TfR2 Receptor de transferrina 2 / Transferrin receptor 2
TGN Red *trans*-Golgi / *trans*-Golgi *network*
TIBC Capacidad total de unión a hierro / Total iron-binding capacity
TMP Timidina monofosfato / Thymidine monophosphate
TOF Masa de tiempo de vuelo / Time-of-flight
tPA Activador del plasminógeno hístico / Tissue plasminogen activator
TPG Pteroilpentaglutamato / Pteroylpentaglutamate
TpI Troponina I / Troponin I
TpL Troponina L / Troponin L
TpT Troponina T / Troponin T
TRE Elemento de respuesta a hormona tiroidea / Thyroid hormone response element
TREX Exportación de transcripción / Transcription-export
TRH Hormona liberadora de tirotropina / Thyrotropin-releasing hormone
tRNAs RNA de transferencia / Transfer RNAs
TSH Hormona estimulante de la tiroides / Thyrod-stimulating hormone
TSS Punto inicial de transcripción / Transcription start site
TT Tiempo de trombina / Thrombin time
TWSG1 Gastrulación por invaginación 1 / Twisted gastrulation 1
TX Tromboxanos / Thromboxanes

U

UAS Secuencia activadora secuencia arriba / Upstream activator sequence
UDP Difosfato de uridina / Uridine diphosphate
UDPGal Uridina difosfato galactosa / Uridine diphosphate galactose
UDPGlc Uridina difosfato de glucosa / Uridine diphosphate glucose
UniProtKB (UniProt Knowleldgebase)
UPR Respuesta a proteína no plegada / Unfolded protein response
UTP Uridina trifosfato / Uridine triphosphate

V

VEGF Factor de crecimiento del endotelio vascular / Vascular endothelial growth factor
V_i Velocidad inicial / Initial velocity
VLDL Lipoproteínas de muy baja densidad / Very low density lipoprotein
$_{vmax}$ Valor máximo / Maximum value
VNTR Números variables de unidades repetidas en tándem / Variable numbers of tandemly repeated

W

WHO Organización Mundial de la Salud / World Health Organization

X

XMP Xantinilato / Xanthinylate

Y

YAC Cromosoma atificial de levadura / Yeast artificial chromosome

Z

ZP Zona pelúcida / Zona pellucida